Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven

Herausgegeben von

H. Friedrich
Direktor des Instituts für Meeresforschung

unter Mitwirkung von

W. Höhnk
Kustos am Institut für Meeresforschung

Band V
Heft 2

mit 8 Tafeln und 7 Textabbildungen

1958
Kommissionsverlag Franz Leuwer, Bremen

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
5 FEB 1962
(5)

Über das Öl des submers lebenden Pilzes Ceratostomella spec.

(*Sphaeriales, Ascomycetes*) *)

Erste Mitteilung

Von R. Dietrich und W. Höhnk

Bei den Pilzen ist Fett als Reservestoff weit verbreitet. In einigen berichteten Fällen ist auch erheblicher Mengen Erwähnung getan. Die auf die Fettbildung hin untersuchten Arten waren meistens *Hefen, Oidium (Oospora) lactis* und *Endomyces vernalis*. Schließlich wiesen Frouins und auch Goris auf das Vorkommen beim Tuberkelbazillus hin. Eine Übersicht über solche Dinge geben Heide (1939), W. Schwartz (1937) und Steiner (1957).

Zum Teil sind die Untersuchungen mit diesen Pilzen sehr intensiv und auf breiter Basis geführt worden. Galt es doch, eine Fettquelle während der Notzeiten zu erschließen. Mit Hilfe der Mikroben sollte aus Kohlehydraten ein für die menschliche Ernährung geeignetes Fett gewonnen werden. Als weiteres Ziel dürfte die Kenntnis des Mechanismus der Fettsynthese im lebenden Organismus angesteuert worden sein (Heide, 1939); dafür sind die kleinen Pilze mit kurzem Lebenszyklus augenscheinlich günstige Objekte.

Zunächst war unsere Fragestellung auf die Qualität des Öles ausgerichtet. Erst dann trat die der rationellen Züchtung und die Weise der Fettgewinnung hinzu. Die Bemühungen um die Lösung der beiden letzten Fragen dauern noch an; über sie wird heute noch nichts mitgeteilt.

Unter den vielen isolierten Pilzen des küstennahen Brack- und Seewassers waren etwa zwei Dutzend obligate oder fakultative Bewohner des Holzes (Höhnk, 1953). Einige unter ihnen speichern in den Hyphen und Konidien reichlich Öl. Einer der augenscheinlich besten Ölbildner wurde herausgenommen und für die chemische Untersuchung vorgesehen.

Siepmann fand 1956 den gleichen Pilz auch am westlichen Ufer der Weser vor der Butjadinger Küste, und zwar auch mehrere Male. Er züchtete ihn, hier im Institut, auf Würzeagar, erreichte die Perithecienbildung und bestimmte ihn. Seine Isolierung Nr. 1 nahmen wir für diese Bearbeitung. (Beide genannten Autoren bringen Abbildungen.)

In der Nährflüssigkeit ohne Schleimmittel bleibt der Pilz asexuell, d. h. er zeigt nur Wachstum und Konidienbildung. Nach drei oder vier Wochen beträgt die Ölmenge 18—24 % des Trockengewichtes.

Die Behandlung des Myzels nimmt zur Zeit den folgenden Weg. Dem Agarbewuchs in der Petrischale werden jeweils kleine Würfel mit Myzel

---

*) Für Sachbeihilfen sind wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Förderkreis Bremer Forschung e. V. dankbar; sie ermöglichten die Durchführung und Ausweitung des Themas.

entnommen, in 300 ccm Erlenmeyerkolben, die 100 oder 150 ccm Nährflüssigkeit enthalten, getan und vier bis sechs Tage geschüttelt. Aus diesen vorgeschüttelten Kolben wird die Gesamtzahl der Kolben (48 in der einen und 90 in der anderen Schüttelmaschine) geimpft, und diese werden dann drei Wochen geschüttelt. In der kleineren Maschine enthalten die Kolben 100 ccm, in der großen 150 ccm; bestimmend für den Unterschied ist die verschieden starke Schleuderbewegung. Die Nährflüssigkeit mit dem Pilz soll nicht den Stopfen berühren.

Das wachsende Myzel hat in den ersten fünf Tagen helle, bräunliche Färbung; danach führt die Tönung zu einem Dunkelbraun und schließlich zum Schwarzbraun mit grünlichem Schimmer. Die Umfärbung ist etwa am 13. Tage erreicht, und damit zusammen fällt der Beginn der maximalen täglichen Ölproduktion, die während etwa einer Woche gleich bleibt. Das Myzel in der Flüssigkeit rollt sich gewöhnlich und bildet bis marmeldicke Kugeln, der wesentliche Teil aber sitzt an der Flaschenwand dort, wo die Benetzungsgrenze der schwingenden Flüssigkeit ist. Dort bilden sich zentimeterdicke Wulste, die in der Mitte auch wohl zusammenwachsen und in halber Kolbenhöhe ein Dach formen können.

Alles Myzel, sowohl das gerollte als auch das von der Glaswand abgeschabte, wird durch einfaches Filtern von der Kulturflüssigkeit getrennt, und beide Teile gehen in die chemische Untersuchung. Im folgenden werden die Analysenwerte für die Rückstände wiedergegeben. Über die restliche Kulturflüssigkeit läßt sich zumeist nur sagen, daß sie sowohl Methyl- (Spuren), als auch Aetyhl-, Isopropyl- und Amylalkohol enthält.

Die Zusammensetzung des durch Säureaufschluß gewonnenen goldgelben, etwas grün fluoreszierenden Pilzöles wurde auf chemisch-analytischem und papierchromatographischem Wege ermittelt.

Zunächst wurden die Kennzahlen des Gesamtöles, der Gesamtfettsäuren und die der über die Bleisalze getrennten festen und flüssigen Fettsäureanteile bestimmt.

Hierbei ergaben sich die nachstehenden Daten:

a) Gesamtöl:

Verseifungszahl	197,3	Esterzahl	176,35
Säurezahl	14,46	Glyceridesterzahl	191,2
Freie Fettsäure (auf Ölsäure bez.)	7,25 %	Refraktion n_{20}^{D}	1,4681
Jodzahl (Kaufmann)	75,77	Refraktion n_{40}^{D}	1,4602
Unverseifbares	1,01 %		

b) Gesamtfettsäuren:

Verseifungszahl	199,3	Neutralisationszahl	199,4
Jodzahl (Kaufmann)	85,06	Refraktion n_{40}^{D}	1,4537

c) Die über die Bleisalze getrennten flüssigen und festen Fettsäureanteile der Gesamtfettsäuren:

30,80 % feste Fettsäureanteile
68,63 % flüssige Fettsäureanteile

Jodzahl (KAUFMANN) der festen Fettsäureanteile 0,49—3,68
(schwankend je nach Reinheitsgrad)

Schmelzpunkt der festen Fettsäureanteile 60,7°

Jodzahl der flüssigen Fettsäureanteile 102,2

Refraktion der flüssigen Fettsäureanteile n_{40}^{D} 1,4587

Auf Grund dieser analytisch bestimmten Kennzahlen kann die Zusammensetzung des vorliegenden Pilzöles zunächst einmal rechnerisch ermittelt werden.

Der Gehalt an Neutralfett im Öl beträgt 100 — 7,25 = 92,75 %.

Unter Berücksichtigung dessen, daß im vorliegenden Öl 7,25 % freie Fettsäure und ein relativ hoher Gehalt an Unverseifbarem vorhanden ist, mußte die analytisch bestimmte Verseifungszahl des Gesamtöles einen zu hohen Wert ergeben. Sie muß in der Berechnung auf das Neutralfett bezogen werden. Dieser Wert wurde daher über das mittlere Molekulargewicht der Fettsäuren und das mittlere Molekulargewicht des Triglycerids errechnet.

Das mittlere Molekulargewicht der Fettsäuren ergibt sich aus

$$\frac{56\,108}{\text{Neutralisationszahl der Gesamtfettsäuren}} = \frac{56\,108}{199{,}4} = M_S = 281{,}4$$

und das mittlere Molekulargewicht der Glyceride

$$M_{Gl} = 3 \cdot M_S + 38{,}01 = M_{Gl} = 882{,}51$$

und hieraus die Verseifungszahl

$$\frac{168324}{882{,}51} = V_F = 190{,}81$$

Die Gesamtfettsäuren lassen sich nun aus der V_F und V der Fettsäuren berechnen

$$\text{Gesamtfettsäuren} = \frac{100 \cdot V_F}{V_S} = 95{,}74\ \%$$

Diese 95,74 % Gesamtfettsäuren setzen sich zusammen aus
88,80 % Fettsäuren aus dem Neutralfett und
7,25 % freien Fettsäuren im Öl.

88,80 % Fettsäuren aus dem Neutralfett entsprechen

$$\frac{885{,}414 \cdot 88{,}80}{847{,}33} = 92{,}78\ \%\ \text{Neutralfett.}$$

Der oben bestimmte Gehalt an Neutralfett (100 — 7,25 = 92,75 %) stimmt mit diesem Wert gut überein.

Weiter errechnet sich der Glyzerinrest zu . . . . . 9,33 %
und der Fettsäurerest (aus Neutralfett) zu . . . . . 83,45 %
was wieder einen Neutralfettgehalt des Öles von . . . 92,78 % ergibt.

Ermittelt man nun weiter bei den über die analytisch ermittelte Säurezahl festgestellten freien Fettsäuren ebenfalls den Säurerest und den dazugehörigen Glyzerinrest, so ergibt sich für die freien Fettsäuren

a) ein Säurerest von . . . . . 6,82 %
b) ein Glyzerinrest von . . . . . 0,76 %.

Die Summe sämtlicher Fettsäure- und Glyzerinreste entspricht dem Gesamtöl abzüglich des Unverseifbaren.

83,45 % Fettsäurerest aus Neutralfett
6,82 % Fettsäurerest der freien Fettsäuren im Öl
9,33 % Glyzerinrest aus Neutralfett
0,76 % Glyzerinrest aus den freien Fettsäuren im Öl
100,36 %

Die Esterzahl ergibt sich aus der Differenz der Verseifungszahl und Säurezahl:

$$E = 190{,}81 - 14{,}46 = 176{,}35$$

und hieraus die Glyzeridesterzahl

$$\frac{100 \cdot E}{\text{Neutralfett}} = \frac{100 \cdot 176{,}35}{92{,}74} = 190{,}15$$

Auf Grund der analytisch bestimmten und daraus berechneten Daten ergibt sich nun folgendes:

Die analytisch gefundene Verseifungszahl des Gesamtöles hat einen Wert von 197,3.

Dieser Wert muß, wie oben dargelegt, zu hoch ausfallen und wurde rechnerisch auf das Neutralfett bezogen und zu 190,81 ermittelt. Da die Glyzeridesterzahl 190,15 annähernd mit der Verseifungszahl 190,81 übereinstimmt, kann angenommen werden, daß im Neutralfett nur Triglyzeride vorliegen.

Das Gesamtsäuregemisch wurde nun über die Bleisalze in feste und flüssige Fettsäureanteile zerlegt. Hierbei ergaben sich im Gesamtfettsäuregemisch etwa

30,80 % feste Fettsäureanteile
und 68,63 % flüssige Fettsäureanteile.

Papierchromatographisch wurde nach der Methode von Kaufmann und Nitsch (1954) festgestellt, daß in dem Pilzöl nur drei Fettsäurekomponenten enthalten sind, und zwar im festen Fettsäureanteil Stearinsäure und im flüssigen Fettsäureanteil Ölsäure und Linolsäure.

Mit Hilfe der Jodzahl der flüssigen Fettsäuren (102,2) wurde nun der Prozentgehalt an Ölsäure und Linolsäure im flüssigen Fettsäureanteil ermittelt:

$$x + y = 100$$
$$89{,}93\,x + 181\,y = 102{,}2 \cdot 100$$
$$x = \text{Ölsäure} = 86{,}54\,\%$$
$$y = \text{Linolsäure} = 13{,}46\,\%$$

Dies entspricht, auf die Gesamtfettsäuren umgerechnet,

59,40 % Ölsäure
9,23 % Linolsäure
30,80 % Stearinsäure.

Zur Kontrolle wurde die Anzahl der in den ungesättigten Fettsäuren vorhandenen Doppelbindungen ermittelt, und zwar aus dem mittleren Molekulargewicht der ungesättigten Fettsäuren unter Berücksichtigung des prozentualen Gehaltes an Ölsäure und Linolsäure und der analytisch gefundenen Jodzahl.

Dabei ergibt sich für die ungesättigten Fettsäuren ein mittleres Molekulargewicht von 282,23.

Damit errechnet sich die Anzahl der Doppelbindungen

$$\frac{\text{mittleres Molekulargewicht} \cdot \text{Jodzahl}}{100 \cdot J_2} = \frac{282{,}23 \cdot 102{,}2}{100 \cdot 253{,}84} = 1{,}14$$

Doppelbindungen pro Molekül des Gemisches Ölsäure/Linolsäure

oder:

86,54 Anteile Ölsäure mit 1 Doppelbindung
13,46 Anteile Linolsäure mit 2 Doppelbindungen =
100,00 Anteile mit 113,46 Doppelbindungen

1,14 Doppelbindungen pro Molekül des Gemisches Ölsäure/Linolsäure.

Papierchromatographisch wurde im festen Fettsäureanteil nach dem Verfahren von Kaufmann und Nitsch Stearinsäure durch R_f-Wert und durch als Modell mitgelaufene reine Stearinsäure nachgewiesen und identifiziert.

Im flüssigen Fettsäureanteil bereitete der Nachweis und die Identifizierung der Linolsäure neben der Ölsäure zunächst Schwierigkeiten, da die Linolsäure sich infolge ihres geringen prozentualen Anteils im Gemisch von der Ölsäure chromatographisch nur schwer trennen ließ. Durch eine kleine Modifikation des Verfahrens war dies dann aber doch möglich, nur lagen jetzt die Rf-Werte in einer anderen Größenordnung, als von Kaufmann in der Literatur angegeben.

Durch Mitlaufen von reiner Ölsäure (Merck) als Modell wurde jedoch auf dem Chromatogramm der jeweilige Rf-Wert von Ölsäure fixiert und so Ölsäure nachgewiesen und identifiziert.

Da es nicht möglich war, den als Linolsäure vermuteten Fleck auf dem Chromatogramm oberhalb des Ölsäurefleckes durch Mitlaufen von reiner Linolsäure als Modell zu identifizieren, wurde der Nachweis folgendermaßen geführt:

Nach den von Kaufmann in der Literatur angegebenen Rf-Werten hat die Ölsäure einen Wert von 0,23 und die 9,12-Linolsäure von 0,36. Der Quotient beider Rf-Werte beträgt demnach $\frac{0{,}36}{0{,}23} = 1{,}565$.

Auf unseren Chromatogrammen wurde der Rf-Wert für Ölsäure durch mitgelaufene Modellölsäure genau festgelegt. Da nun das Verhältnis der Laufstrecke der Linolsäure zur Laufstrecke der Ölsäure unter denselben Bedingungen immer gleich ist, muß auch der Quotient beider Rf-Werte praktisch gleich sein.

Im Mittel ergab sich bei allen unseren Chromatogrammen ein Wert von 1,56.

Somit wurde der auf den Chromatogrammen oberhalb der Ölsäure auftretende Fleck als Linolsäure angesprochen.

Um sicher zu gehen, daß der flüssige Fettsäureanteil nur Ölsäure und Linolsäure enthält, wurde der flüssige Fettsäureanteil über die Bariumsalze noch weiter aufgeteilt. Hierbei wurde ein als Bariumsalz unlöslicher Teil (Bariumoleat) und ein lösliche Bariumsalze enthaltender Anteil erhalten. Nach Freimachung der Säuren wurde jeder Anteil für sich chromatographiert.

Der als unlösliches Bariumsalz vorliegende Anteil erwies sich als reine Ölsäure und der lösliches Bariumsalz enthaltende Anteil als Linolsäure.

Zusammenfassend ist zu sagen: Bei dem durch Säureaufschluß gewonnenen goldgelben, leicht grün fluoreszierenden Pilzöl handelt es sich um ein reines Triglyzerid mit einer durchschnittlichen Zusammensetzung von

59,40 % Ölsäure
9,23 % Linolsäure
30,80 % Stearinsäure.

Das gewonnene Öl ist qualitativ als gut zu bezeichnen.

Während des chemischen Arbeitsprozesses trat bei den letzten Extraktionen ein Farbumschlag von hellgelb nach braun auf. Die dadurch veranlaßten Untersuchungen ergaben das Vorhandensein von Vitamin E in starker Dosis, Vitamin D in geringerer Menge und vielleicht auch von Carotin. Die laufenden Arbeiten werden später darüber weiteren Aufschluß geben.

Die Durchführung von Tierfütterungsversuchen hat entgegenkommenderweise das Institut für Kleintierzucht in Celle durch Vermittlung des Herrn Dr. STUTE übernommen. Sie dürften inzwischen angelaufen sein.

Das Gesamtproblem läßt die Untersuchung weiterer Pilze aus dem gleichen Lebensraum wünschenswert erscheinen. Zur Skizzierung der Fragestellung sei zunächst auf die kürzlich erschienene vorläufige Mitteilung von BECKER, KAMPF und KOHLMEYER hingewiesen.

Sie beschäftigten sich mit der Ernährung der Bohrasseln. Dieser Schädling besiedelt erst das Holz, wenn es mehrere Wochen im Meerwasser gelagert hat. Danach zeigt das Substrat Pilzbewuchs, und zwar nicht nur an der Oberfläche, sondern auch an den Wänden der Bohrgänge, die die Bohrassel gräbt.

Die Fütterungsversuche ergaben, daß die Bohrasseln Hemizellulose und andere leicht aufschließbare Kohlehydrate verwerten; dazu bedürfen sie aber gewisser Abbauprodukte des Holzes, die durch die Einwirkung der Pilze entstehen, und zusätzlich noch des Myzels von Pilzen.

Es wird angenommen, daß die Tiere das Myzel für ihren Einweiß-, Fett- und Vitaminbedarf benötigen. Unser gleichzeitig geführter Nachweis des Öls und der Vitamine stützt diese Hypothese.

Ob nun ein ektosymbiontisches Verhältnis zwischen den tierischen Schädlingen und den Pilzen vorliegt, dürfte noch näher zu prüfen sein. Gesichert ist, daß die Bohrassel den Pilz frißt und seiner bedarf, und daß in unserem Falle ein holzbewohnender Pilz Eiweiß, Öl und Vitamine zur Verfügung hat.

BECKER und Mitarbeiter berichten auch nicht von unserem Pilz, *Ceratostomella,* sondern nennen *Helicoma.* Sie fanden wir oft an unseren Hölzern aus dem Brack- und Seewasser und auch vergesellschaftet mit *Ceratostomella.* Ihre Konidien sind von einer Tapetenschicht von kleinen Öltropfen ausgekleidet. Es mag sein, daß der Hyphen- und Konidieninhalt bei beiden Pilzen ähnlich ist.

Ein Nutzen für den Pilz könnte darin bestehen, daß entweder die dickwandigen Konidien den Tierkörper passieren ohne aufgeschlossen zu werden, und dadurch die Ausbreitung der Art gefördert wird, ohne daß die Ausscheidungen der Tiere den Konidien Keimungs- und Ernährungsmöglichkeiten geben. Vielleicht liegt auch noch kein zweiseitig, sondern nur ein einseitig bedingtes Zusammenleben vor, in der Weise, wie VON LENGERKEN (1942) es am Eingang seiner Darstellung über Ectosymbiose bei gewissen rindenbrütenden Käfern ausgeführt hat.

Der Gesichtspunkt der Ectosymbiose ist auch für submerse Verhältnisse gegeben und verdient darum Beachtung, weil er für Maßnahmen des Holzschutzes wichtig werden kann.

SIEPMANN fand unsere *Ceratostomella* auch auf schlickigem Boden an der Brackwasserküste. Dieses Vorkommen legt die Frage nahe, ob nicht auch

schlickbewohnende tierische Organismen mit dem gleichen Nutzen Pilzfresser sein können.

Allezeit war die Frage nach der Deckung des Vitaminbedarfes im dunklen submersen Raum schwierig oder kaum zu beantworten. Die Verbreitung der Hefen im Weltmeer gibt einen ersten Hinweis dafür. An der Küste und in Nebenmeeren ist ihre Häufigkeit schon seit siebzig Jahren bekannt. Kriss (1954) fand sie auch in der Tiefe des Arktischen Ozeans und in 140 Meilen Küstenferne im Pazifik in propagativem Zustand. Sie dürften als Vitaminspender allenthalben Bedeutung haben.

Vielleicht mag den Pilzen des Meeres- und Ozeanbodens, die allerdings heute erst bis 1250 m Tiefe nachgewiesen worden sind (Höhnk, 1956), in diesem Rahmen allgemein eine Aufgabe zufallen. Der Gedanke daran ergibt sich leicht; die nächsten Jahre dürften wohl schon entscheidendes Material zu dieser Frage beibringen.

Anschriften der Verfasser:

Dr. R. Dietrich, Institut für Meeresforschung, Bremerhaven
Dr. W. Höhnk, Institut für Meeresforschung, Bremerhaven

Literaturverzeichnis.

Becker, G., W.-D. Kampf und J. Kohlmeyer. 1941. Zur Ernährung der Holzbohrasseln der Gattung Limnoria. — Naturwissenschaften **24** (17): 473—474.

Heide, S. 1939. Zur Physiologie und Cytologie der Fettbildung bei Endomyces vernalis. — Archiv f. Mikrobiologie **10**: 135—188.

Höhnk, W. 1953. Studien zur Brack- und Seewassermykologie V.: Höhere Pilze des submersen Holzes. — Veröff. d. Inst. f. Meeresforschung Bremerhaven, **III**: 199—227.

— 1956. Studien zur Brack- und Seewassermykologie VI: Über die pilzliche Besiedlung verschieden salziger submerser Standorte. — Veröff. d. Inst. f. Meeresforschung **IV**: 195—213.

Kaufmann, H. P. und W. H. Nitsch, 1954. Fette, Seifen. **56**: 154.

Kriss, A. E. und M. J. Nowoshiloff. 1954. Sind Hefeorganismen Meer- oder Ozeanbewohner? — Acad. Wiss. S.S.S.R. Moskau (Mikrobiologie, Ausgabe 5).

Lengerken, H. v. 1942. Ecto- und Endosymbiose zwischen phytophagen Käfern, Pilzen und Bakterien. — Biologia generalis **16**: 408—433.

Schwartz, W. 1935. Untersuchungen über die Symbiose von Tieren und Pilzen und Bakterien. IV. Mitteilung. — Archiv für Mikrobiologie **6**: 639.

— 1935. Angewandte Chemie. **50**: 294.

Siepmann, R. 1957. Ein Beitrag zur saprophytischen Pilzflora des Wattes der Wesermündung. — Diss. Kiel.

Steiner, M. 1957. Die Physiologie der Fettbildung und Fettspeicherung bei niederen Pflanzen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie. **7**: 209—279.

Untersuchungen zur Atmungsphysiologie und Osmoregulation bei *Mytilus edulis* mit einem kurzen Anhang über die Blutkonzentration von *Dreissensia polymorpha* in Abhängigkeit vom Elektrolytgehalt des Außenmediums[1])

Von Hans-Werner Rotthauwe

Material und Methodik

Die Miesmuscheln stammten entweder aus der Kieler Innenförde (Salzgehalt 12 bis 18 ‰), wo sie von Brückenpfählen aus 2 bis 3 m Wassertiefe mit Hilfe eines Pfahlkratzers abgekratzt wurden, oder wurden aus dem Nordostseekanal (Kilometer 87, mittlerer Salzgehalt etwa 8 ‰) geholt. Im Laboratorium wurden die Tiere zunächst in großen, flachen, gut durchlüfteten Aquarien gehalten, die mit Wasser gefüllt waren, deren Salzgehalt dem ihres Fundortes entsprach. Spätestens nach drei bis vier Tagen wurden die Tiere in den Atmungs- bzw. Adaptationsexperimenten verwendet. Bei den Untersuchungen über die Osmoregulation erfolgte die Anpassung an die betreffenden Seewasserkonzentrationen (hergestellt durch Verdünnen von Ostsee- und Nordseewasser mit Leitungswasser) in wenigstens vier bis fünf Tagen.

Der Sauerstoffgehalt des Ostseewassers wurde auf polarographischem Wege bestimmt. Die Grundlagen der quantitativen Sauerstoffbestimmung in See- und Süßwasser mit Hilfe der Quecksilbertropfelektrode und deren Anwendung bei physiologischen Untersuchungen wurden an anderer Stelle ausführlich beschrieben (Rotthauwe 1952, im Druck). Die Konzentration der Blutflüssigkeit bestimmten wir kryoskopisch nach der von Kinne (1952) angegebenen Methode. Nachdem durch vorsichtiges Herausbrechen eines Schalenstückes die Herzgegend freigelegt worden war, wurde mit einer Kapillare eine kleine Menge Blut direkt aus dem Herzen entnommen. In der bei Ramsay (1949) beschriebenen Weise war die Probe in der Kapillare aus Duranglas beiderseits von flüssigem Paraffin begrenzt.

---

[1]) Die Arbeit stellt einen Teil der 1952 im Institut für Meeresforschung der Universität Kiel angefertigten Dissertation dar.

Untersuchungen über die Atmungsphysiologie

Die Sauerstoffaufnahme der Muscheln wird durch zwei Faktoren bestimmt: durch die Sauerstoffausnutzung und durch das Ventilationsvolumen. Das Ventilationsvolumen ist die in einer bestimmten Zeit an den respiratorischen Oberflächen vorbeigeführte Wassermenge. Unter der Sauerstoffausnutzung wird die auf den Sauerstoffgehalt des Inspirationswassers bezogene Sauerstoffmenge verstanden, die dem Wasser an den respiratorischen Oberflächen entzogen wird.

Der Sauerstoffverbrauch eines Tieres kann meist als ein bequemes Maß des Energieumsatzes betrachtet werden. Diese Verallgemeinerung gilt allerdings für *Mytilus edulis* nur mit Einschränkung, da dieses Tier — wie übrigens auch viele andere Muscheln — starke anoxybiontische Fähigkeiten zeigt. Der Übergang von oxybiontischer zu anoxybiontischer Atmung erfolgt nicht nur unter ungünstigen Außenbedingungen (z. B. starke Veränderungen des Salzgehaltes oder Trockenfallen), sondern geht oft auch ohne jede erkennbare äußere Ursache in respiratorisch günstigem Milieu vor sich. In einer anaeroben Phase laden die Muscheln eine Sauerstoffschuld auf sich, die sich nach Wiederbeginn oxybiontischer Atmung in einer über den Normalwert erhöhten Sauerstoffaufnahme bemerkbar macht.

Maßgeblichen Einfluß auf den Energieumsatz hat der Aktivitätszustand. Bei den Warmblütlern unterscheidet man einen Ruhe- oder Basal- und einen Arbeitsstoffwechsel. Bei den Wirbellosen dagegen kann man im allgemeinen keinen wohldefinierten Grundumsatz feststellen. Ihr Ruheumsatz verändert sich oft kontinuierlich. Bei den Muscheln aber läßt sich auch ein nur annähernd konstanter Basalstoffwechsel sehr schwer ermitteln, da bei ihnen die Sauerstoffaufnahme an einen aktiven Wassertransport also an einen Arbeitsvorgang gekoppelt ist. Über den Sauerstoffverbrauch wird man immer einen Teil des Arbeitsstoffwechsels miterfassen. Für diesen lassen sich aber keine so konstanten Bedingungen wie bei den Homoiothermen angeben. Man muß einen bestimmten Aktivitätszustand als „normale Aktivität" zugrundelegen und sämtliche Tiere in diesem Zustand untersuchen. Ludwig (1937) unterscheidet bei *Dreissensia polymorpha* drei physiologische Zustände: Apathie, Ruhe und Aktivität. Diese drei Zustände gelten nach unseren Beobachtungen auch für *Mytilus edulis*. Der Zustand der „Ruhe", in dem die auf der Unterlage festgeklebten Tiere mit ausgestreckten Siphonen strudeln, entspricht am besten dem Verhalten der Tiere im natürlichen Lebensraum. Für unsere sämtlichen Atmungsuntersuchungen wählten wir daher die Ruhe als Normalzustand, da sie am ehesten Gewähr für einigermaßen konstante Bedingungen gibt.

Neben dem Aktivitätszustand beeinflussen eine Reihe weiterer innerer und äußerer Faktoren den Energieumsatz: z. B. Temperatur, Salzgehalt,

Sauerstoffspannung, Körpergröße, rhythmische Erscheinungen. Von diesen wurden die Bedeutung der Körpergröße und der Sauerstoffkonzentration im Atmungswasser für die Sauerstoffaufnahme näher untersucht.

1. Der Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit von der Tiergröße. Nach dem RUBNERschen Oberflächengesetz zeigt der gewichtsbezogene Stoffwechsel bei steigender Tiergröße eine kontinuierliche Abnahme. Er bleibt aber annähernd konstant, wenn der Stoffumsatz auf die Oberfläche der Tiere bezogen wird. Heute zweifelt man allerdings wieder an einer strengen Oberflächenproportionalität der Atmung bei den Homoiothermen und setzt sie zu $P^{0,74}$ bis $P^{0,85}$ in Beziehung, statt zu $P^{2/3}$ (LEHMANN 1952, P = Tiergewicht). Ob die Stoffwechselreduktion mit zunehmender Tiergröße auf zellulären oder organismischen Faktoren beruht, ist noch nicht entschieden.

Neuere Untersuchungen über die Abhängigkeit der Stoffwechselintensität Wirbelloser von der Körpergröße stammen von LUDWIG und seiner Schule. Sie besagen, daß alle untersuchten Kiemenatmer (Muscheln, Prosobranchier, kiemenatmende Asseln) einen der Oberfläche proportionalen Sauerstoffverbrauch aufweisen, alle Insekten aber proportional zum Gewicht atmen. Nach ZEUTHEN (1947) kann der Energieumsatz nicht über alle Lineargrößen mit der gleichen Potenz des Körpergewichtes in Beziehung gesetzt werden. Bei Tieren mittlerer Größe besteht häufig eine gute Korrelation zwischen Oberfläche und Stoffwechselintensität.

Bei unseren Versuchen differierten die Körpergewichte der Versuchstiere um etwa das Sechzehnfache. Innerhalb dieses Bereiches kann die Potenz des Gewichtes, der der Sauerstoffkonsum parallel geht, als nahezu konstant angesehen werden. Da die Beziehung $(O_2) = c \text{ mal } P^x$ und $\log (O_2) = \log c + x \log P$ gilt (wobei (O_2) den Sauerstoffverbrauch und P das Körpergewicht bedeuten), muß in einem doppelt logarithmischen Koordinatensystem eine lineare Beziehung zwischen Körpergewicht und Sauerstoffaufnahme bestehen. Der Richtungsfaktor der durch die Meßpunkte gelegten Geraden gibt die Potenz $x = \tan \alpha$ an. Bei $x = 1$, $\tan \alpha = 45$ Grad liegt Proportionalität zum Körpergewicht, bei $x = 2/3$, $\alpha = 33$ Grad 41 Minuten dagegen liegt Proportionalität zur Oberfläche vor. Voraussetzung für die Gültigkeit der mathematischen Beziehung ist geometrische Ähnlichkeit. Außerdem dürfen sich die Tiere in ihrer Zusammensetzung aus den einzelnen Geweben nicht zu sehr voneinander unterscheiden. Wir untersuchten deshalb nur fortpflanzungsfähige Tiere. Insgesamt wurde der Sauerstoffverbrauch von 24 Einzeltieren bestimmt. Alle Tiere befanden sich während der gesamten Versuchsdauer im Zustand der „Ruhe". Tabelle 1 gibt die Werte wieder. Die großen individuellen Unterschiede in den Q_{O_2}-Werten beruhen sicherlich nicht auf methodischen Mängeln, da die mittlere Schwankungsbreite der Atmungswerte mit 5 bis 8 % der üblichen Schwankungsbreite entspricht.

Tier Nr.	Schalenlänge (mm)	Org. Trockengewicht (mg)	Geschlecht	O_2-Verbrauch (cmm/Std.)	Q_{O_2}
1	29,5	106	♀	230	2,17
2	31,1	158	♀	78	0,49
3	31,7	179	♂	450	2,51
4	38,1	324	♀	380	1,17
5	37,3	334	♀	340	1,02
6	37,0	334	♂	240	0,72
7	41,1	353	♀	450	1,27
8	37,8	373	♀	340	0,91
9	41,8	379	♀	230	0,61
10	41,5	396	♂	450	1,14
11	44,9	442	♀	375	0,85
12	45,4	497	♂	550	1,11
13	46,8	648	♀	350	0,54
14	50,0	818	♂	730	0,89
15	66,6	984	♀	990	1,01
16	60,2	1088	♀	790	0,73
17	55,9	1127	♂	885	0,79
18	55,6	1146	♀	450	0,39
19	59,2	1270	♂	670	0,53
20	67,5	1445	♀	990	0,69
21	69,0	1475	♀	860	0,58
22	68,3	1556	♀	990	0,64
23	62,2	1629	♂	1050	0,64
24	64,8	1681	♂	1200	0,71

Tabelle 1

Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom Tiergewicht bei *Mytilus edulis*. 16 ‰ Seewasser, 16° C, April bis Mai.

Derartig große individuelle Schwankungen — in unseren Versuchen liegen die Q_{O_2}-Werte zwischen 0,39 und 2,51 — wurden auch schon von anderen Autoren festgestellt. Galtsoff und Whipple (1930) fanden bei Austern bei 22° C eine Sauerstoffaufnahme von 6,5 bis 15 ccm pro 10 g Trockengewicht. Whedon und Sommer (1939) geben für *Mytilus californianus* Werte von 0,3 bis 2,0 ccm O_2 pro 10 g Naßgewicht und Stunde an. Bruce (1926) stellte bei *Mytilus edulis* bei 16,2° C einen Sauerstoffverbrauch von 0,430 ccm / 10 g Naßgewicht / Std. fest. Legt man einen Wassergehalt von etwa 80 % zugrunde, so beträgt der Q_{O_2}-Wert 0,22. Der mittlere Q_{O_2}-Wert in unseren Versuchen beläuft sich auf 0,75. Während unsere Versuche aber zur Fortpflanzungszeit ausgeführt wurden, untersuchte Bruce Tiere, die teilweise über ein Jahr in Aquarien gehalten worden waren und die sich außerhalb der Fortpflanzungsperiode befanden. Maloeuf (1938) gibt für *Mytilus edulis* bei 25° C einen Sauerstoffverbrauch von 36 ccm/g Frischgewicht / 30 Minuten an. Umgerechnet entspricht dieser Wert einem Q_{O_2} von etwa 0,36. Aus den schon erwähnten Angaben von Galtsoff und Whipple (1930) und von Whedon und Sommer (1938) berechnet sich der Q_{O_2} für Austern bei 24,5° C zu 0,65 bis 1,5 und für *Mytilus californianus* zu 0,15 bis 1,0 (keine genauen Temperaturangaben, wahrscheinlich 17° C). Die größenordnungsmäßige Übereinstimmung mit unseren Werten befriedigt.

Ludwig und Krywienczyk (1950) geben für *Dreissensia* bei 23° C eine Sauerstoffaufnahme von 390 ccm pro 1 ccm Muschelvolumen an. Wir fanden pyknometrisch, daß bei *Mytilus edulis* 1 g organische Trockensubstanz einem Muschelvolumen von etwa 12 ccm entspricht. Bei 16° C weist also 1 ccm einen stündlichen Sauerstoffverbrauch von rund 60 ccm auf. *Mytilus edulis* zeigt somit — auch bei Berücksichtigung der Temperatur — einen wesentlich geringeren volumenbezogenen Sauerstoffverbrauch als *Dreissensia*. Die Sauerstoffaufnahme entspricht etwa dem von Weinland für *Anodonta* gefundenen Wert von 60 ccm Sauerstoff pro 1 ccm und Stunde bei 23° C (zitiert nach Ludwig und Krywienczyk 1950).

Trotz der großen Schwankungsbreite deutet sich in Tabelle 1 schon an, daß der Q_{O_2}-Wert mit steigendem Tiergewicht abnimmt. Diese Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme vom Tiergewicht läßt sich noch besser zeigen, wenn in einem doppelt logarithmischen Koordinatensystem der Sauerstoffverbrauch gegen das Tiergewicht aufgetragen wird (Abb. 1). Zur Berechnung

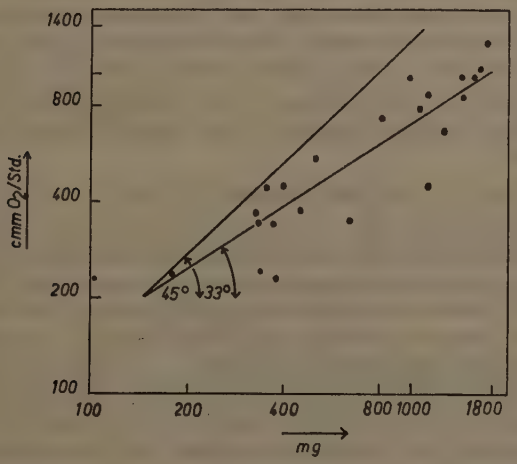

Abb. 1: Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauches vom Gesamttrockengewicht (Werte der Tabelle 1).

Abszisse: Trockengewicht (mg). Ordinate: Stündlicher Sauerstoffverbrauch (ccm). Darstellung im log-log-System. 16 ‰ Seewasser, luftgesättigt, 16° C.

Der Wert für den Sauerstoffverbrauch des Tieres Nr. 2 (Tabelle 1) ist in der Darstellung nicht wiedergegeben, um eine übersichtliche Darstellung im logarithmischen Maßsystem zu erreichen.

des Anstiegswinkels der der Punkteschar entsprechenden Geraden wurde die van Uvensche Formel benuzt (Kittel 1941). Da bei der rechnerischen Ermittlung ein einzelner aberranter Wert besonders stark ins Gewicht fallen kann, schlossen wir den Wert für das Tier Nr. 2 aus. Dieses Vorgehen scheint uns dadurch gerechtfertigt, daß bei diesem Tier die Fortpflanzungsfähigkeit nicht einwandfrei festgestellt werden konnte. Der mathematisch berechnete Anstiegswinkel der Geraden beträgt 34 Grad (tang α = 0,676). Die große Schwankungsbreite wird aus dem Fehler zu α von 0,0082 erkenntlich. Damit kann als gesichert angesehen werden, daß *Mytilus edulis* proportional zu $P^{2/3}$ und nicht, wie Lehmann (1952) für Mollusken annimmt, proportional zu P^1 atmet.

Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt des Außenmediums

Nach der Reaktion des oxybiontischen Stoffwechsels auf Veränderungen der Sauerstoffspannung im Außenmedium lassen sich die Tiere in zwei Reaktionstypen einteilen. Bei dem einen Typ bleibt der Sauerstoffverbrauch auch bei großen Druckdifferenzen konstant. Bei der anderen Gruppe dagegen folgt der Sauerstoffkonsum den Veränderungen der Sauerstoffspannung. Wahrscheinlich besteht aber zwischen beiden Typen kein grundsätzlicher Unterschied. Beide Gruppen unterscheiden sich wohl nur hinsichtlich der Lage des kritischen Druckes, d. h. der Sauerstoffspannung, unterhalb deren der Sauerstoffbedarf das Sauerstoffangebot übersteigt, der Sauerstoffverbrauch damit abhängig vom Sauerstoffgehalt des Außenmediums wird.

Welchem dieser beiden Reaktionstypen die Muscheln einzuordnen sind, steht bislang noch nicht fest. So liegt nach Galtsoff und Whipple (1930) der kritische Sauerstoffgehalt für *Ostrea virginica* bei 24,5° C bei 1,5 ccm O_2/l. Bei *Mytilus edulis* dagegen soll nach Bruce (1926) und Maloeuf (1938) bis hinauf zur völligen Sauerstoffsättigung des Seewassers lineare Abhängigkeit zwischen Sauerstoffspannung und -verbrauch bestehen. Somit stellt sich die Frage, ob zwischen zwei Muscheln wie *Ostrea* und *Mytilus*, beide ohne Besitz respiratorischer Farbstoffe, wirklich ein so grundsätzlicher Unterschied besteht, oder ob die Ergebnisse nicht auf einer zu sehr differierenden Versuchsanordnung beruhen können. Galtsoff und Whipple (1930) stellten ihre Versuche bei Luftsättigung des Versuchswassers und darunter liegenden Sauerstoffkonzentrationen an. Bruce (1926) dagegen machte Messungen bei 80 bis 160 und 400 mm Hg pO_2, während Maloeuf (1938) die Schlußfolgerungen aus seinen wenigen Versuchswerten vor allem aus den bei 760 mm Hg pO_2 durchgeführten Experimenten zieht (während der Versuche wurden die Schalen durch einen eingeführten Glasstab offengehalten!). Bekanntlich kann aber sehr hoher Sauerstoffdruck schädigend auf den Organismus wirken. Außerdem wurde an anderen Wirbellosen (z. B. *Asterias rubens*, Meyer 1935) festgestellt, daß stark erhöhter Sauerstoffdruck meist nur zu Anfang den Sauerstoffverbrauch stark steigert, im

Laufe des Versuches aber der Sauerstoffverbrauch unter den Normalwert absinkt.

Die Ergebnisse unserer an 15 Einzeltieren durchgeführten Versuche gibt Abb. 2 wieder. Die Sauerstoffkonzentration bei Luftsättigung ist gleich 100 % gesetzt. Alle übrigen durch Einleiten von Bombenstickstoff hergestellten Sauerstoffkonzentrationen sind hierauf bezogen. Es wurden nur solche Versuche verwertet, bei denen sichergestellt war, daß die Tiere

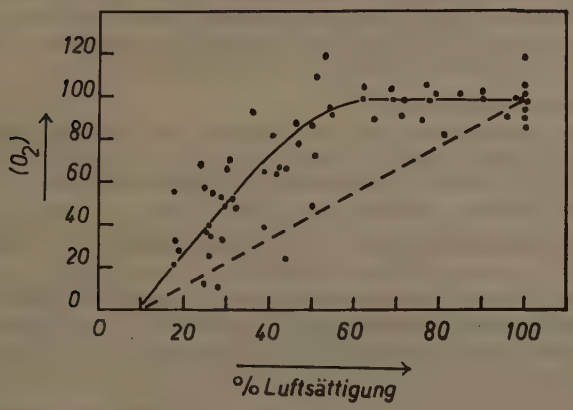

Abb. 2: Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauches vom Sauerstoffgehalt des Versuchswassers.

Abszisse: Sauerstoffgehalt des Versuchswassers in prozentualer Luftsättigung. Ordinate: Sauerstoffverbrauch in Prozent der „Normalatmung" (Atmung in luftgesättigtem Wasser).
16 ‰ Seewasser, 19° C.

Die ausgezogene Kurve wurde nach dem Augenschein gezeichnet. Die gestrichelte Gerade stellt die Erwartungsgerade für den Fall linearer Abhängigkeit von Sauerstoffkonzentration und -verbrauch dar. Die Werte für den Sauerstoffverbrauch sind gegen die jeweiligen Sauerstoffkonzentrationen zu Versuchsbeginn aufgetragen.

mehrere Stunden vor Beginn des Versuches keine anaerobe Phase durchgemacht hatten und in den Atmungsgefäßen festgesponnen sich während des ganzen Versuches bei gleichmäßig weit geöffneten Schalen im Zustand der „Ruhe" befanden. Nur ein kleiner Teil der bei Luftsättigung des Versuchswassers durchgeführten Einzelversuche (ihr jeweiliger Mittelwert ergab die „Normalatmung" eines Einzeltieres) konnte in der Abbildung

wiedergegeben werden. Die maximale Schwankungsbreite ist aber zum Ausdruck gebracht. In unseren Experimenten ist der Sauerstoffverbrauch der Miesmuschel von 100 bis etwa 60 % Luftsättigung unabhängig von der Sauerstoffkonzentration. Darunter nimmt die Sauerstoffaufnahme offenbar linear mit dem Sauerstoffdruck ab. Die kritische Sauerstoffkonzentration liegt bei etwa 3 ccm O_2/l. Sauerstoffmengen von weniger als 0,5 ccm O_2/l scheint *Mytilus* nicht oder nur sehr langsam ausnutzen zu können. Jedenfalls sank in Versuchen von mehr als 12 Stunden Dauer die Sauerstoffkonzentration trotz niedriger Anfangswerte nicht unter 8 bis 10 % Luftsättigung ab. Nach unseren Versuchen gehört also *Mytilus* im Gegensatz zu den Ergebnissen von Bruce und Maloeuf ebenso wie *Ostrea* zu den Tieren, die ihren Sauerstoffverbrauch innerhalb eines gewissen Sauerstoffkonzentrationsbereiches konstant zu halten vermögen.

Sauerstoffausnutzung

Nach den Untersuchungen von van Dam (1935, 1938) und Hazelhoff (1938) lassen sich die wasserlebenden kiemenatmenden Tiere nach der Höhe ihres Sauerstoffausnutzungskoeffizienten in zwei Gruppen einteilen. Die filtrierenden Partikelfresser erzeugen einen Wasserstrom, aus dem sie die suspendierten Nahrungspartikel abfiltrieren und gleichzeitig physikalisch gelösten Sauerstoff entnehmen. Ihr Ventilationsvolumen muß aus Gründen des Nahrungserwerbes groß sein. Somit steht ihnen auch zur Sauerstoffaufnahme eine große Wassermenge zur Verfügung, die den relativ niedrigen Ausnutzungskoeffizienten erklärt. Zu dieser Gruppe gehören die Schwämme, Muscheln und Manteltiere. An insgesamt 14 Vertretern dieser Gruppe ermittelte Hazelhoff einen mittleren Ausnutzungskoeffizienten von 13 %. Für Muscheln liegen folgende Werte vor:

Art	Prozentualer Ausnutzungskoeffizient	Autor
Mya arenaria	5—10	van Dam 1935
Anodonta cygnea	3—11	van Dam 1938
Solen siliqua	7—12	Hazelhoff 1938
Cardium tuberculatum	6—10	Hazelhoff 1938
Pinna nobilis	3—8	Hazelhoff 1938
Pecten grandis	0,5—9	van Dam 1954
Pecten irradians	1—13	van Dam 1954

Die nichtpartikelfressenden Tiere dagegen erzeugen einen Wasserstrom, der lediglich der Atmung dient. Ihr Ausnutzungskoeffizient liegt im Mittel bei 53 % (Hazelhoff 1938).

a) Normale Sauerstoffausnutzung

In Tabelle 2 sind Werte für die normale Sauerstoffausnutzung bei *Mytilus edulis* (Schalenlänge 6—8 cm) in luftgesättigtem Seewasser (16 ‰) bei 13° C wiedergegeben. Jeder Wert stellt das Mittel aus mindestens fünf Einzelbestimmungen dar. Es war sichergestellt, daß die Tiere in den letz-

ten Stunden vor Versuchsbeginn keine anaerobe Phase durchgemacht hatten. Der prozentuale Ausnutzungskoeffizient ist sehr niedrig. Er liegt noch unter den von VAN DAM und HAZELHOFF für Muscheln angegebenen Werten. Allerdings untersuchte HAZELHOFF Mittelmeertiere bei 16 bis 20° C, VAN DAM *Mya arenaria* bei 21 bis 22° C.

Tier Nr.	Prozentuale Sauerstoffausnutzung
1	4
2	3
3	3
4	3
5	3
6	3
7	3
8	2
9	3
10	4
11	3
Mittlere prozentuale Ausnutzung	3

Tabelle 2

Prozentuale Sauerstoffausnutzung. 16 ‰ Seewasser, luftgesättigt, 13 ° C, März—April

Einen wesentlich höheren Ausnutzungskoeffizienten von 19 % erhielten wir bei dieser niedrigen Temperatur nur in einem Fall. Es handelte sich dabei um ein Tier, bei dem der respiratorische Wasserstrom trotz weitgeöffneter Ingestions- und Egestionsöffnung ruhte. Schalenschluß erfolgte bei diesem Tier auf mechanische Reizung hin nur sehr langsam. Wir hatten aus diesen Gründen das Tier bei der Aufstellung der Tabelle 2 nicht berücksichtigt. Auch VAN DAM fand bei *Anodonta* derartig hohe Ausnutzungskoeffizienten, wenn — wie in unserem Falle — der Respirationsstrom aus einem nicht ersichtlichen Grunde verlangsamt oder auf Null herabgesunken war.

Zum Teil wesentlich höhere Koeffizienten traten aber auch in Versuchen auf, die im Monat Juni bei 20° C durchgeführt wurden. Tabelle 3 bringt die Ergebnisse.

Es ist aber fraglich, ob man aus den Ergebnissen der beiden bei zwei verschiedenen Temperaturen durchgeführten Versuchsreihen den Schluß ziehen darf, daß eine Temperatursteigerung stets mit einer so starken Zunahme der Sauerstoffausnutzung verbunden ist. Die Versuche im Juni wurden mit Tieren durchgeführt, die sich auf dem Höhepunkt der Fortpflanzungstätigkeit befanden. Sie laichten häufig im Versuchsbecken ab. Nach den Angaben von BRUCE (1926) hat man bei einer Temperaturerhöhung von 13 auf 20° C eine Erhöhung der Sauerstoffaufnahme um etwa 50 % zu erwarten. Allerdings braucht der erhöhte Sauerstoffbedarf nicht zwangsläufig mit einer erhöhten Ausnutzung verbunden zu sein. Er könnte

auch durch eine Zunahme des Ventilationsvolumens gedeckt werden. Die Steigerung der prozentualen Ausnutzung ist größer, als unter Annahme eines bei beiden Temperaturen gleich großen Ventilationsvolumens erwartet werden sollte. Bei diesen Überlegungen ist der geringere Sauerstoffgehalt des Wassers und der vermehrte Sauerstoffbedarf bei der höheren Temperatur berücksichtigt. Wahrscheinlich liefert die mit 50 % ver-

Tier Nr.	Prozentuale Sauerstoffausnutzung
1	11
2	14
3	11
4	20
5	19
6	20
7	23
8	21
9	25
10	19
11	7
12	5
13	3
14	5
Mittlere prozentuale Ausnutzung	15

Tabelle 3

Prozentuale Sauerstoffausnutzung. 16 ‰ Seewasser, luftgesättigt, 20° C, Juni.

anschlagte Steigerung des Sauerstoffverbrauches für Tiere in der Fortpflanzungsphase zu niedrige Werte.

b) Sauerstoffausnutzung nach erzwungener Anaerobiose

Mytilus edulis hat wie viele andere Muscheln die Fähigkeit, längere Zeit ohne Sauerstoff auszukommen. Von ihrer anaeroben Toleranz gibt folgender Versuch einen schönen Beweis: Einzeltiere (Schalenlänge 3 bis 4 cm) wurden in Glasschliffflaschen gebracht, die mit 16 ‰ Seewasser gefüllt waren. Die Gefäße wurden luftdicht verschlossen. Wie Stichproben zeigten, war das Wasser infolge des Sauerstoffverbrauches der Tiere nach 48 Stunden praktisch frei von Sauerstoff. Trotzdem blieben die Tiere bei einer Temperatur von 14 bis 15° C im Durchschnitt 21 Tage am Leben, während sie bei 21 bis 22° C rund 10 bis 12 Tage überlebten. Da bei 14 bis 15° C nach etwa 14 bis 16 Tagen und bei 21 bis 22° C nach rund 6 bis 8 Tagen H_2S-Entwicklung einsetzte, ist zunächst nicht zu entscheiden, ob die gefundenen Überlebenszeiten wirklich auf Erschöpfung der anaeroben Fähigkeiten der Tiere oder auf Vergiftung durch ihre Exkrete bzw. durch die Stoffwechselprodukte von Bakterien beruhen. Vermutlich nützt *Mytilus edulis* aber nicht nur den im Wasser gelösten Sauerstoff aus sondern auch den Sauerstoff der atmosphärischen Luft. Hält man nämlich Tiere außer-

halb des Wassers bei hoher Luftfeuchte, so öffnen sie häufig ihre Schalen. Dabei fließt das Wasser größtenteils aus der Mantelhöhle aus, und die Luft erhält freien Zutritt zu den respiratorischen Oberflächen. Da THAMDRUP (1935) bei *Mya* und *Cardium* unter ähnlichen Bedingungen eine Sauerstoffaufnahme quantitativ nachweisen konnte, liegt die Vermutung nahe, auch für *Mytilus* gleiche Fähigkeiten anzunehmen.

In einer anaeroben Phase laden die Muscheln meist eine Sauerstoffschuld auf sich, die bei Wiederbeginn oxybiontischer Atmung durch erhöhte Sauerstoffaufnahme und vielleicht auch durch ein gesteigertes Ventilationsvolumen abgegolten wird. Diese erhöhte Sauerstoffaufnahme nach erzwungener Anaerobiose wies erstmals VAN DAM (1935) bei *Mya arenaria* nach. Wir konnten sie bei *Mytilus edulis* bestätigen. In Abbildung 3 ist der zeitliche Verlauf der prozentualen Sauerstoffausnutzung bei drei Versuchstieren nach einer erzwungenen vierundzwanzigstündigen anaeroben Periode wiedergegeben. Der erste Meßpunkt repräsentiert jeweils den Wert, der unmittelbar nach erfolgter Schalen- und Siphonenöffnung er-

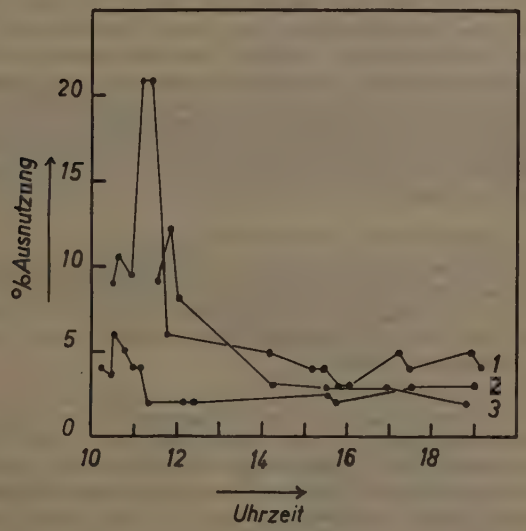

Abb. 3: Sauerstoffausnutzung nach einer erzwungenen Anaerobiose von 24 Stunden bei drei Versuchstieren.
16 ‰ Seewasser, luftgesättigt, 13° C. Jeder Meßpunkt stellt in der Regel das Mittel aus Doppelbestimmungen dar.
Abszisse: Uhrzeit, Ordinate: Prozentuale Sauerstoffausnutzung.

halten wurde. Den Höchstwert erreicht die prozentuale Sauerstoffausnutzung erst kurz nach Wiederbeginn der oxybiontischen Atmung. Die Steigerung ist nur verhältnismäßig kurzfristig. Nach längstens eineinhalb Stunden sind wieder Normalwerte erreicht. Im Gegensatz hierzu hielt die Erhöhung der Ausnutzung bei *Anodonta* zahlreiche Stunden an (VAN DAM 1938). Sollte auch bei *Mya* und *Anodonta* eine zeitliche Trennung von maximaler Ausnutzung und Wiederbeginn normaler Atmung bestehen, so konnte sie VAN DAM entgehen, da er frühestens 30 Minuten nach Beendigung der anoxybiontischen Phase die ersten Messungen anstellte. Trotz gleichlanger vorausgegangener Anaerobiose sind die bei den drei Tieren festgestellten Ausnutzungskoeffizienten sehr verschieden (21, 12 und 6 %). In anderen Versuchen war nach dreitägiger Anaerobiose die Ausnutzung nur unwesentlich über den Normalwert von 3 % erhöht. Worauf diese individuellen Unterschiede und die Tatsache beruhen, daß keine Abhängigkeit zwischen Höhe der Sauerstoffausnutzung und Dauer der anaerobiontischen Periode bestehen, bleibt unklar. Eine gewisse Bedeutung könnte eine regulatorische Veränderung des Ventilationsvolumens haben. Wahrscheinlich reagieren die Muscheln aber nicht einheitlich auf den Sauerstoffentzug. Sicherlich tritt bei Trockenfallen der Tiere stets eine starke Einschränkung des Stoffwechsels ein. Der restliche Stoffwechsel kann aber entweder durch unvollständige Oxydation befriedigt werden, die mit Aufladen einer Sauerstoffschuld verknüpft ist, oder aber auf einem echten anaeroben Stoffwechsel beruhen, dessen Stoffwechselprodukte bei Wiederbeginn der oxybiontischen Atmung nicht oxydiert werden. Die großen individuellen Unterschiede der Ausnutzungskoeffizienten nach einer anaeroben Periode ließen sich dann durch wechselnd große Anteile dieser Prozesse am Energieumsatz erklären.

Untersuchungen über die Osmoregulation

Nur wenige marine Organismen sind innerhalb eines großen Salzgehaltsbereiches lebens- und fortpflanzungsfähig. Zu diesen euryhalinen Meerestieren gehört die Miesmuschel *Mytilus edulis*. Sie kommt im Bottnischen Meeresbusen noch bei einem Salzgehalt von 4 bis 3,7 ‰ vor (NORDQUIST, zitiert nach JAECKEL jun. 1950).

In Abbildung 4 sind die Werte für die Blutkonzentration von *Mytilus edulis* aus der Kieler Innenförde in Abhängigkeit vom Salzgehalt des Außenmediums wiedergegeben. Die Tiere waren bei 12 bis 13° C an die betreffenden Salzgehalte angepaßt worden. Eine Adaptation an Salzgehalte unter 5 ‰ war nicht möglich. Bei diesen niedrigen Konzentrationen hielten die Tiere ihre Schalen geschlossen. Tiere, bei denen durch Ausbrechen eines Schalenstückes ein Kontakt mit dem Außenmedium erzwungen war, starben innerhalb der Adaptationszeit. Wie die Abbildung zeigt, stimmt die Konzentration des Blutes mit der des Seewassers nahezu überein. Eine geringe Hypertonie, wie sie sich in einigen Werten anzudeuten scheint, war statistisch nicht zu sichern. Es ist zu berücksichtigen, daß die Gefrier-

punktserniedrigung des Seewassers aus dem titrimetrisch bestimmten Salzgehalt errechnet wurde und auch mit einer gewissen Unsicherheit behaftet ist. Die gleichen Verhältnisse wurden auch bei Tieren angetroffen, die von einem Fundort mit im Durchschnitt nur halb so hohem Salzgehalt stammten (Nordostseekanal, Kilometer 87, durchschnittlicher Salzgehalt etwa 8 ‰, Abb. 5). Diese Tiere überlebten in niederen Salzgehalten allerdings besser

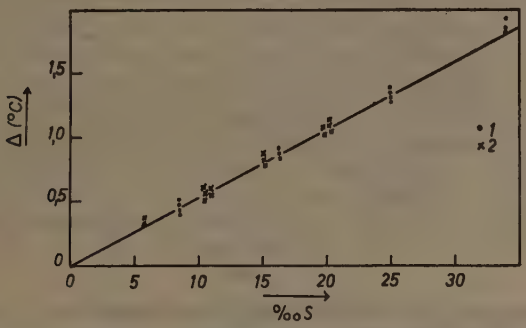

Abb. 4: Abhängigkeit der Blutkonzentration vom Salzgehalt des Außenmediums bei Mytilus edulis aus der Kieler Förde.
Abszisse: Salzgehalt des Außenmediums, Ordinate: Gefrierpunktserniedrigung des Blutes bzw. des Außenmediums. 1 = Muscheln unbeschädigt, 2 = Muscheln, denen an der Ingestionsöffnung ein Schalenstück ausgebrochen wurde. Adaptationstemperatur 12 bis 13 Grad. Die Gerade gibt die Gefrierpunktserniedrigung des Seewassers an.

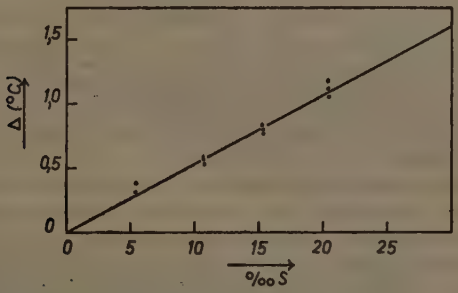

Abb. 5: Abhängigkeit der Blutkonzentration vom Salzgehalt des Außenmediums bei Mytilus edulis aus dem Nordostseekanal.
Abszisse: Salzgehalt des Außenmediums, Ordinate: Gefrierpunktserniedrigung des Blutes bzw. des Außenmediums. Adaptationstemperatur 12 bis 13 Grad. Die Gerade gibt die Gefrierpunktserniedrigung des Seewassers an.

als Tiere aus der Kieler Innenförde. Auch bei Fördetieren, die bei einer Temperatur von 19° C an hyper- bzw. hypotonisches Seewasser angepaßt worden waren, stimmte die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes mit der des Seewassers überein (Abb. 6). Die Lebensfähigkeit war allerdings bei dieser Temperatur in den niederen Salzgehalten stark eingeschränkt.

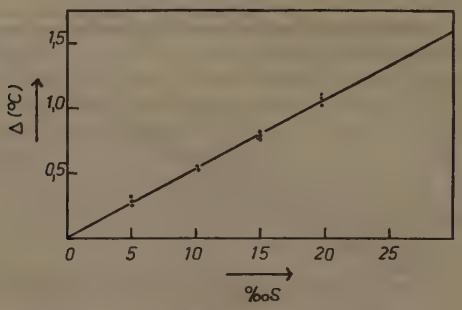

Abb. 6: Abhängigkeit der Blutkonzentration vom Salzgehalt des Außenmediums bei Mytilus edulis aus der Kieler Förde.
Abszisse: Salzgehalt des Außenmediums, Ordinate: Gefrierpunktserniedrigung des Blutes bzw. des Außenmediums. Adaptationstemperatur 19 Grad. Die Gerade gibt die Gefrierpunktserniedrigung des Seewassers an.

Abhängigkeit der Blutkonzentration von *Dreissensia polymorpha* vom Salzgehalt des Außenmediums

Die Wandermuschel *Dreissensia polymorpha* ist eine Verwandte der Miesmuschel. Die Wandermuschel wird teils als ein Einwanderer aus dem Schwarzen und Kaspischen Meer, teils als ein die Eiszeit überdauerndes Relikt der Diluvialzeit angesehen. Nach Remane (1950) dringt *Dreissensia polymorpha* noch gelegentlich in Brackwasser von 6 bis 7 ‰ ein. In der Schlei erträgt sie einen durchschnittlichen Salzgehalt von 4,7 ‰ (Jaeckel jun. 1950).

Das Blut von *Dreissensia polymorpha* ist bei Tieren, die in Süßwasser gehalten wurden, gegenüber dem Außenmedium hypertonisch (Abbildung 7). Mit steigendem Salzgehalt verzichtet diese Muschel auf eine aktive Regulation der Gesamtkonzentration des Blutes. Bei Salzgehalten, bei denen die Miesmuschel ihr unteres Grenzvorkommen findet, ist Isotonie zwischen Außen- und Innenmedium eingetreten. *Dreissensia polymorpha* besitzt gegenüber Süßwasser etwa die gleiche Hypertonie wie *Anodonta cygnea* (Florkin und Duchateau 1948). Auch bei dieser Muschel stimmen in verdünntem Seewasser die Konzentrationen von Außen- und Innenmedium überein.

Dreissensia polymorpha konnte nur dadurch ins Süßwasser einwandern, daß es ihr gelang, osmoregulatorische Fähigkeiten zu entwickeln, die eine geringe Hypertonie gegenüber dem Süßwasser aufrechterhalten. Dieses Vermögen wurde aber offensichtlich mit dem Verlust der Fähigkeit, höhere Salzgehalte zu ertragen, erkauft. *Mytilus edulis* dagegen kann zwar eine weitgehende Verminderung des Elektrolytgehaltes der Blutflüssigkeit ertragen; den entscheidenden Schritt zur Besiedelung des Süßwassers aber konnte sie nicht tun, da ihr die dazu erforderlichen osmoregulatorischen Fähigkeiten fehlen. Ihr Blut bleibt immer, wie schon Schlieper (1929) und Conklin und Krogh (1939) feststellten, mit dem Außenmedium isotonisch. Trotz weitgehender Isotonie ist aber auch bei den marinen Muscheln die ionale Zusammensetzung von Blutflüssigkeit und Seewasser nicht gleich (Robertson 1949). Die ionalen Unterschiede sind aber im Vergleich zu den aktiv osmoregulierenden Tieren nur sehr gering. Nach Fox (1941) wird bei *Mytilus californianus* der Chloridgehalt des Gewebes im Gegensatz zum Chloridspiegel des Blutes, der den Veränderungen des Seewassers weitgehend folgt, konstanter gehalten. Wahrscheinlich besteht daher auch bei *Mytilus edulis* eine aktive Ionenregulation zwischen Blutflüssigkeit und Gewebe.

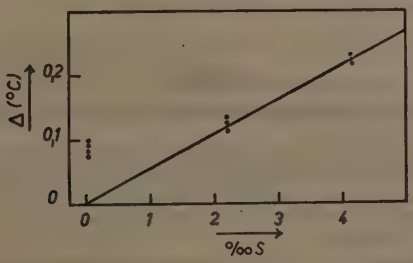

Abb. 7: Abhängigkeit der Blutkonzentration vom Salzgehalt des Außenmediums bei Dreissensia polymorpha aus einem Süßwassersee.
Abszisse: Salzgehalt des Außenmediums, Ordinate: Gefrierpunktserniedrigung des Blutes bzw. des Außenmediums. Adaptationstemperatur 12 bis 13 Grad. Die Gerade gibt die Gefrierpunktserniedrigung des Außenmediums an.

Zusammenfassung

Versuchsobjekte waren Miesmuscheln *(Mytilus edulis)* aus der Kieler Innenförde und aus dem Nordostseekanal sowie Wandermuscheln *(Dreissensia polymorpha)* aus einem Süßwassersee. Es wurden bei *M. edulis* mit Hilfe der polarographischen Sauerstoffbestimmung untersucht: der Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit von Körpergröße und Sauerstoffkonzentration im Außenmedium und die normale Sauerstoffaus-

nutzung sowie die Sauerstoffausnutzung nach erzwungener Anaerobiose. Mittels der kryoskopischen Mikromethode wurde festgestellt, wie sich bei *Mytilus edulis* und *Dreissensia polymorpha* die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes bei Veränderungen des Elektrolytgehaltes des Außenmediums verhält.

Der Sauerstoffverbrauch zeigt große individuelle Unterschiede. Er geht der Oberfläche der Tiere weitgehend parallel. In 16 ‰ Seewasser ist bei 19° C die Sauerstoffaufnahme von 100 bis 60 % Luftsättigung des Wassers unabhängig vom Sauerstoffgehalt, darunter nimmt der Sauerstoffkonsum annähernd parallel mit der Sauerstoffspannung ab. Die bei normalem Stoffwechselablauf meist niedrige Sauerstoffausnutzung ist nach anaeroben Perioden oft kurzfristig gesteigert.

Bei *Mytilus* stimmt die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes mit der des Seewassers weitgehend überein. Das Blut von *Dreissensia* ist im Süßwasser leicht hypertonisch, mit steigendem Salzgehalt stellt sich Isotonie zwischen Außen- und Innenmedium ein.

Anschrift des Verfassers:
Dr. rer. nat. et Dr. med. Hans-Werner Rotthauwe, Hamburg 20, Husumer Straße 35

Literatur:

Bruce, J. R.: 1926, The respiratory exchange of the mussel (Mytilus edulis L.). Bioch. J. 20, 829—846.

Conklin, R. & Krogh, A.: 1939, A note on the osmotic behaviour of Eriocheir in concentrated and Mytilus edulis in dilute sea water. Zschr. vergl. Physiol. 26.

Florkin, M. & Duchateau, G.: 1948, Sur l' Osmoregulation de l' Anodonte (Anodonta cygnea L.). Physiologia Comparata et Oecologia, 1,29.

Fox, D. L.: 1941, Biol. Bull. 80.

Galtsoff, P. S. & Whipple, D. V.: 1930, Oxygen consumption of normal and green oysters. Bull. Bureau of Fiskeries 46.

Hazelhoff, E. H.: 1938, Über die Ausnutzung des Sauerstoffs bei verschiedenen Wassertieren. Zschr. vergl. Physiol. 26,300.

Jaeckel, S. jr.: 1950, Die Mollusken der Schlei. Arch. Hydrobiol. 44,214.

Kinne, O.: 1952, Ein neues Gerät zur Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung kleiner Flüssigkeitsmengen. Veröffentl. Inst. f. Meeresforsch. Bremerhaven, 1,47.

Kittel, A.: 1941, Körpergröße, Körperzeiten und Energiebilanz. II. Der Sauerstoffverbrauch der Insekten in Abhängigkeit von der Körpergröße. Zschr. vergl. Physiol. 28,533.

Lehmann, G.: 1952, Tiergröße und Stoffwechsel. Umschau 55, Heft 12.

Ludwig, W.: 1937, Körpergröße, Körperzeiten und Energiebilanz. I. Untersuchungen an Süßwassermollusken und -arthropoden. Zschr. vergl. Physiol. 24,319.

Ludwig, W. und Krywienczyk, J.: 1950, Körpergröße, Körperzeiten und Energiebilanz III. Der Sauerstoffverbrauch von Muscheln in Abhängigkeit von der Körpergröße. Z. vergl. Physiol. 32,464.

MALOEUF, N. S. R.: 1938, Studies on the respiration (and osmoregulation) of animals. 1. Aquatic animals without an oxygen transporter in their internal medium. Z. vergl. Physiol. 25,1.

MEYER, H.: 1935, Die Atmung von Aszerias rubens und ihre Abhängigkeit von verschiedenen Außenfaktoren. Zool. Jahrb. Physiol. 55,349.

RAMSAY, J. A.: 1949, A new method of freezing-point determination for small quantities. J. Exper. Biol. 26,54.

REMANE, A.: 1950, Das Vordringen limnischer Tierarten in das Meeresgebiet der Nord- und Ostsee. Kieler Meeresforsch. 7,5.

ROBERTSON, J. D.: 1949, Jonic regulation in some marine invertebrates. J. Exper. Biol. 26,182.

ROTTHAUWE, H.-W.: 1952, Die Sauerstoffbestimmung in Meerwasser mit Hilfe der Quecksilbertropfelektrode und ihre Anwendung bei physiologischen Untersuchungen an Mytilus edulis (Lamellibranchiata). Dissertation Kiel 1952.

— Die Sauerstoffbestimmung in See- und Süßwasser mit Hilfe der Quecksilbertropfelektrode und ihre Anwendung bei physiol. Untersuchungen. Kieler Meeresforsch. Im Druck.

SCHLIEPER, C.: 1929, Über die Einwirkung niederer Salzkonzentrationen auf marine Organismen. Z. vergl. Physiol. 9,478.

THAMDRUP, H. M.: 1935, Beiträge zur Ökologie der Wattenfauna auf experimenteller Grundlage. Medd. Komm. Danmarks Fiskeri og Havunders, Ser. Fiskeri 10,2.

VAN DAM, L.: 1935, On the utilization of oxygen by Mya arenaria. J. Exper. Biol. 12,86.

— 1938, On the utilization of oxygen and regulation of breathing in some aquatic animals. Thesis, Groningen.

— 1954, On the respiration in scallops (Lamellibranchiata). Biol. Bull. 107,192.

WHEDON, W. F. & SOMMER, H.: 1937, Respiratory exchange of Mytilus californianus. Zschr. vergl. Physiol. 25,523.

ZEUTHEN, E.: 1947, Body size and metabolic rate in the animal kingdom with special regard to the marine microfauna. Compt. Rend. des Traveaux du Laboratoire Carlsberg Serie Chimique 26.

Note on the opening response of *Balanus balanoides* (L.) in relation to salinity and certain inorganic ions.

H. Barnes and Margaret Barnes

The Marine Station, Millport, Scotland
and The Department of Zoology, University of California,
Los Angeles

Introduction.

The behaviour pattern of *Balanus balanoides (L.)* on exposure to air has recently been described in some detail (Barnes and Barnes, in press). During intertidal periods air is retained in the mantle cavity. On re-immersion gas is expelled before the resumption of normal cirral activity. The response to sea water is rapid; the opercular valves open and gas is released within 10—15 seconds of immersion and full cirral rhythm (in early summer) is normally attained within two minutes. The following experiments were designed to investigate some of the factors involved in the stimulation of these activities.

The Material and Methods.

B. balanoides has a membranous base and cannot, therefore, be removed from the substratum for this type of experiment. The inconvenience of working with large stones was avoided by using animals which had grown on mussels *(Mytilus)*. The mussel was cut open, the soft parts removed and the halves dried. The barnacles attached to the shells were exposed to air for a standard period before each test. Sea water or the test solution was kept at the side of the drying animal so that both were at room temperature (18°—19° C) thus eliminating any effects of temperature change when the animal was immersed. In each experiment the animal, attached to the mussel shell, was placed in a shallow dish on the stage of a dissecting microscope and flooded with the test solution. Observations were made under low power magnification. The animals were subject throughout to diffuse daylight; no artificial light was used to illuminate the stage. No attempt was made to aerate the solutions during the experiments; deductions are largely drawn from the observations of relatively short initial periods.

All the experiments were carried out during the late spring and early summer when, under field conditions, the animals are active.

The Normal Response to Immersion.

Within 10—15 seconds of immersion in sea water animals ranging from 2—10 mm. rostro-carinal diameter open the operculum and release gas from the mantle cavity. Small bubbles may at first come out to be followed by one or more bubbles. At the same time the cirri are partially extruded and may at intervals twist at the opercular opening. Frequently gas is trapped amongst the cirri. Faeces may also be expelled during these movements. Following upon the expulsion of gas small barnacles have usually resumed full cirral activity in 60—90 seconds; with larger individuals the release of all the gas may take longer, the opercular valves temporarily closing during the process. However, even in large animals, full cirral activity is usually attained within a few minutes of immersion.

The Site of the Response.

If an animal is carefully flooded no response takes place until water has reached the lips of the opercular valves. When a single drop of water is placed on the opercular folds, after a slight delay (2 minutes) compared with the time interval on flooding, the valves open and gas is released. If no further water is added — even if water is present at the edges of the operculum where it is attached to the inside of the compartments — the operculum closes. Addition of further drops again stimulates the valves to open.

It is possible that a drop of water placed in this way on the micropylar opening of the valves (formed by the uncalcified portion of the operculum) may penetrate into the mantle cavity, but it may be suggested that the receptors for this initial opening response perhaps lie in these soft parts of the operculum (see below) which are very sensitive to touch.

The Effect of Salinity.

When animals were flooded with 90—75 % sea water distilled water solutions (pH adjusted in solutions when necessary) the response was as for natural sea water. At 66 % sea water, after an initial opening and gas release (within 50 seconds) the opercular valves closed; this was followed by a second opening and eventually by almost normal cirral activity. Below 50 % sea water the initial opening still took place without the establishment of rhythmic cirral beats. In distilled or tap water there is still an initial opening with a slight release of gas but immediately afterwards the valves close tightly; no micropylar opening is maintained for the valves are retracted into the mantle cavity as when they respond to touch.

These results suggest that two responses are involved in the normal behaviour pattern; there is an opening response to water (independent of its salt content) and a cirral response in which sea water is involved. The rapid closure when flooded with distilled water constitutes a separate

response; if the animal were beating it would be preceeded by withdrawal of the cirri.

To save repetition, we may point out that the initial opening response was manifested to some extent — and usually fully — in all subsequent experiments irrespective of the composition of the test solution.

The Effect of Osmotic Pressure (Salt Content).

Test animals were flooded with solutions of sodium chloride whose concentrations were adjusted to give 100—25 % of the osmotic pressure of sea water.

With isotonic sodium chloride, although after initial expulsion of gas there was an attempt at cirral activity normal beating was never established. Twisting of the partially extruded cirri may take place but it is not followed by rhythmic beating. Similar reactions occur in 75—50 % isotonic solutions, but at 25 % full sea water the behaviour is comparable with that in 25 % natural sea water; there is no attempt at activity and the opercular valves become tightly retracted.

These experiments suggest that something other than osmotic pressure (or salt content) is involved in stimulating cirral activity but that the extreme closure response is made to lowered osmotic pressure (or salt content).

It may be added that toxic substances in the sodium chloride were not responsible for the observed results; artificial sea water made from the same stock with the appropriate additions gave the responses observed in natural sea water.

The Effect of Specific Ions.

In order to test the effect of specific ions solutions were made up containing sodium chloride with the addition of potassium, calcium and magnesium chlorides at concentrations comparable with those of sea water.

I. Potassium. The addition of potassium to sodium chloride solutions isotonic with sea water gave no change in the behaviour.

II. Calcium. Preliminary results had indicated a marked response to calcium additions and a series of solutions containing isotonic sodium chloride and 1.0, 0.5, and 0.25 the normal sea water content of calcium ions were tested. In all the solutions the behaviour of the animals approached that in normal sea water; expulsion of gas was followed by cirral activity. Ten minutes after immersion cirral beat was normal in all the solutions; after twenty minutes was only normal in those solutions containing 0.5 or 1.0 calcium ion concentrations and after forty minutes only in those containing the full calcium content of sea water were the animals active. Double the calcium content had no deleterious effect. Even after 6 hours in these rather unnatural conditions some of the

animals were still beating in those isotonic sodium chloride solutions to which a full complement of calcium ions had been added.

III. Magnesium. The above experiments were repeated using isotonic sodium chloride and 1.0, 0.5 and 0.25 magnesium ion concentrations of sea water. In all the solutions cirral activity was established within ten minutes; after twenty minutes only the 1.0 magnesium solution had active animals whilst after forty minutes most of the animals were gaping in all the solutions. Reduction of either the calcium or magnesium content below the levels given above — down to 0.1 the normal sea water valve — gave in both cases rhythmic cirral activity which, however, soon ceased.

It seems evident from these experiments that both calcium and magnesium ions are capable of initiating cirral activity and that continued activity is most easily maintained by the addition of calcium ions.

The Interaction of Specific Ions and Salt Content.

It is evident that normal cirral activity is stimulated and maintained by the presence of calcium and magnesium ions — particulary the former. It is necessary to establish whether osmotic pressure or salt content as such play a part. A series of solutions were, therefore, tested with constant normal calcium and magnesium ion content and variable sodium chloride concentrations.

In either 50 % isotonic sodium chloride or 50 % sea water with the normal quantity of calcium or magnesium ions the behaviour is abnormal and little different from similar solutions without the calcium and magnesium additions; gas is expelled from the mantle cavity and in the solutions containing magnesium ions an occasional beat was observed. After a short time, however, the opercular valves closed tightly. It would appear, therefore, that for calcium or magnesium ions to be effective they must be present in solutions of the osmotic pressure (salt content) required for normal behaviour. Further it was observed that in very dilute solutions the presence of these ions did not prevent the closure response to solutions of lowered salinity.

Choline chloride solutions have been used to make metal free solutions of similar osmotic pressure to sea water and the effect of such solutions with and without the addition of calcium and magnesium ions should give some information in the present problem. In choline chloride solutions isotonic with sea water an initial cirral response was obtained but it was not maintained for more than a few minutes. Neither did the addition of the appropriate quantities of choline chloride to diluted sea water (below 25 %) restore the normal activity. Further, the addition of calcium and magnesium ions to isotonic choline chloride solutions only prolonged the initial beating slightly. In none of these solutions was normal rhythmic beating established.

Discussion and Summary.

It is not intended to discuss the voluminous literature on the actions of salt solutions and specific ions on muscular or nervous activity except to stress that we have here another example of the importance of calcium and probably magnesium ions.

The experiments indicate that specific ions in a medium of osmotic pressure and salt content approaching that at which sea water is effective is essential for continued normal activity. It is of interest to note that Poulsen (1935) found that *B. balanoides* penetrates the Baltic regions until the salinity drops below about 12 ‰ and this approximates to the solutions (40—50 % sea water) at which normal cirral activity was not established in these experiments. Complete "salt sleep", that is closing of the opercular valves in response to lowered salinity, possibly with the establishment of an anaerobic regime does not take place according to Borusk and Kreps (1929) until a salinity of 6.5—7.5 ‰ is reached. The requirements indicated above for normal activity in the adult may well, therefore, be as important as the resistance of the larvae to diluted sea water (Barnes, 1953) in the distribution of the species.

We should like to thank Professor Th. H. Bullock for his helpful and critical comments.

References.

Barnes, H. The effect of lowered salinity on some barnacle nauplii. J. Anim. Ecol., **22**, 328—330, 1953.

Barnes, H. and M. Barnes. Resistance to desiccation in intertidal barnacles. (in press).

Borusk, V. and E. Kreps. Untersuchungen über den respiratorischen Gaswechsel bei *Balanus balanoides* und *B. crenatus* bei verschiedenem Salzgehalt des Außenmediums. III. Uber den Sauerstoffverbrauch im Luftmilieu bei verschiedenem Salzgehalt der Körperflüssigkeit bei *B. balanoides*. Pflügers Arch. f. Physiol., **222**, 371—380, 1929.

Poulsen, E. M. De danske Farvandes Rurer (Balanomorpha og Verrucomorpha). Vidensk. Meddel. Dansk naturh. Foren., **99**, 5—27, 1935.

Hydrochemie und Phytoplankton in der Unterelbe

Von Eva-Maria Bursche, Heinrich Kühl und Hans Mann

Mit 8 Tafeln

I. Fragestellung:

In Flußmündungsgebieten beeinflussen bekanntlich Wasserführung und Tidebewegung das gesamte Leben im Wasser. Die Urproduktion bzw. die Planktonzusammensetzung ist abhängig von dem jeweils herrschenden Mischungsverhältnis von Süß- und Salzwasser. Dieses wechselt sowohl zeitlich wie örtlich. In einer früheren Untersuchung (2) (Bursche, Kühl u. Mann) beschäftigten wir uns mit den zeitlichen Veränderungen an einem Ort (Cuxhaven) in Abhängigkeit von der Tide. Wir konnten dabei feststellen, daß unter den chemischen Faktoren an erster Stelle der Salzgehalt von Bedeutung ist, der die Planktongemeinschaft direkt beeinflußt, während die Schwankungen einer Reihe anderer Faktoren nur als Folgeerscheinung von Abbau und Aufbau des Planktons zu werten sind. Die Aufgabe dieser Arbeit soll es sein, an einigen ausgewählten, charakteristischen Punkten der Unterelbe zwischen Hamburg und der See die Ausbildung des Phytoplanktons im Zusammenhang mit dem Salzgehalt zu untersuchen. Wie bei den oben erwähnten Untersuchungen bei Cuxhaven haben wir auch hier eine Auswahl anderer chemischer Faktoren in die Betrachtung mit einbezogen. Während in der früheren Untersuchung der zeitliche Wechsel von Phytoplankton und Hydrochemie im Vordergrund unseres Interesses stand, sollen in der vorliegenden Arbeit mehr die örtlichen Veränderungen behandelt werden. Es ist klar, daß einer solchen Untersuchung Schwierigkeiten rein technischer Art entgegenstehen, da die Probeentnahmen von einem Fahrzeug aus nicht gleichzeitig an verschiedenen Orten durchgeführt werden können. Neben den üblichen hydrographisch-chemischen Faktoren, wie Salzgehalt, Temperatur, Trübung usw., haben wir auch den Gehalt an organischer Substanz, Chlorophyll und Eiweiß bestimmt. Krey (1952—56) wies schon bei seinen Arbeiten über diese Faktoren in der freien See auf die Schwierigkeiten einer Deutung der Zusammenhänge mit dem Plankton hin. In einem Fluß werden diese Schwierigkeiten durch viele schwer übersehbare Einflüsse noch viel größer, z. B. Einleitungen von Abwässern, Zuflüsse, Einschwemmungen vom Ufergelände usw. Wir haben diese Faktoren trotzdem bestimmt und versucht, sie mit der Phytoplanktonentwicklung in Beziehung zu setzen.

II. Hydrochemischer Teil:

1. Methodik

Für die Untersuchung wurden einige charakteristische Untersuchungsstationen ausgewählt (Abb. 1).

1. Blankenese (km 635, Tonne G): Oberste Station, durch Hamburger städtische und Industrieabwässer mehr oder weniger verunreinigtes Flußwasser.

2. Glückstadt (km 675, Tonne 3 u. F): Die obere Begrenzung der oligohalinen Zone liegt in diesem Gebiet. Von hier ab macht sich schon der Salzgehalt in steigendem Maße bemerkbar.

3. Scheelenkuhlen (km 685, Tonne G u. 25): Gebiet starker Trübung und Sedimentationen, obere Grenze der mesohalinen Zone.

3a. Vor Brunsbüttel (km 700), dem Eingang zum Nordostseekanal, wurde nur einmal eine Probe entnommen (November 1956).

4. Vor Otterndorf-Medemmündung (km 710, Tonne 19): Obere Grenze der meio-mesohalinen Zone. Von hier ab nimmt der Salzgehalt schnell zu, außerdem beginnt hier das Gebiet der großen Salzgehaltsschwankungen.

5a/b. Cuxhaven (km 724 u. 728, in Abb. 1 als 725 zusammengefaßt): Obere Grenze der polyhalinen Zone, Salzgehaltssprungzone. Hier wurden auf kleinem Raum gelegentlich zwei Proben entnommen (Tonne 16 und Tonne 14, früher Tonne 14a bzw. 13).

6.—8. Elbefeuerschiff 3, Elbefeuerschiff 2, Elbefeuerschiff 1: Polyhaline Zone und Westwasserzone, Gebiet zunehmenden Salzgehalts.

Die Fahrten wurden zum Teil mit dem Forschungskutter „Uthörn" unter Führung von Kapitän Hornsmann, zum Teil mit dem Fischereiaufsichtsfahrzeug „Hannover" unter Führung des 1. Fischmeisters Ermonett ausgeführt.*) Da die Fahrten für unsere Untersuchungen sich oftmals in den Rahmen größerer anderer Untersuchungsfahrten einfügen mußten und auch gelegentlich stürmisches Wetter die Probeentnahme besonders in der Außenelbe verhinderte, konnte unser Programm nicht so erfüllt werden, wie wir es geplant hatten. Auf diese Weise entstanden gelegentlich Lücken in dem Ablauf der Probeentnahmen. Ursprünglich war jeweils eine Talfahrt mit ablaufendem Wasser (Ebbe) und eine Bergfahrt mit auflaufendem Wasser (Flut) vorgesehen. Auch diese ließen sich meist aus Termingründen nicht einhalten. So fanden einige Talfahrten gegen die Flut statt. Auf die Einzelheiten wird weiter unten bei den Besprechungen eingegangen. Außerdem war es wie auch bei unseren früheren Fahrten nicht möglich, die gesamte Fahrt in einer Tide (besonders bei der Talfahrt) durchzuführen. Durch die hierdurch erforderlichen Fahrtunterbrechungen ergeben sich meist

---

*) An dieser Stelle möchten wir den Schiffsführern und den Schiffsbesatzungen für ihre Hilfe danken.

Sprünge im Kurvenverlauf, wenn z. B. eine Fahrt in Cuxhaven mit dem letzten ablaufenden Wasser beendet wird und am nächsten Tag mit dem ersten ablaufenden Wasser wieder beginnt. Insgesamt führten wir drei Fahrten durch:

die erste Fahrt am 9., 10. und 16. November 1955,
die zweite Fahrt am 11., 12. und 17. Mai 1956,
die dritte Fahrt am 16., 17., 18. und 22. November 1956.

Die Abflußmengen am Pegel Darchau waren an den betreffenden Untersuchungsfahrten wie folgt:

9. 11. 1955:	575 m^3/s
10. 11. 1955:	565 m^3/s
16. 11. 1955:	490 m^3/s
11. 5. 1956:	1400 m^3/s
12. 5. 1956:	1370 m^3/s
17. 5. 1956:	1195 m^3/s
16. 11. 1956:	1180 m^3/s
17. 11. 1956:	1150 m^3/s
18. 11. 1956:	1150 m^3/s
22. 11. 1956:	975 m^3/s

Sämtliche Proben waren Oberflächenschöpfproben. Wir bestimmten wie in den früheren Untersuchungen folgende Faktoren: 1. Wassertemperatur, 2. Salzgehalt nach Mohr, 3. pH-Wert kolorimetrisch nach Czensny, 4. SBV mit n/10 HCl und Methylorange, 5. Ammonium kolorimetrisch nach Czensny, 6. Nitrit kolorimetrisch nach Czensny, 7. Nitrat kolorimetrisch nach Gad, 8. Silizium nach Kalle, 9. Gesamtphosphat nach Kalle, 10. Trübung photometrisch, 11. Sestongehalt in mg/l, 12. organische Substanz in mg/l, 13. Eiweiß in mg/l (Biuretreaktion) nach Krey, 14. Chlorophyll in γ/l nach Krey.

2. Ergebnisse

Die chemischen Ergebnisse aller Fahrten sind aus den Tabellen 1 bis 3, Seite 170—171, zu entnehmen, einzelne besonders interessierende Faktoren sind noch einmal graphisch dargestellt (Abb. 2 bis 5).

Die Wassertemperaturen bewegten sich bei unseren Fahrten in folgenden Grenzen:

November 1955: 7,1° bei km 635 (Blankenese), um 10,4° bei Feuerschiff Elbe 1; Mai 1956: 14,2° bei km 635 (Blankenese), 10,0° bei Feuerschiff Elbe 1; November 1956: 4,2° bei km 720 (Cuxhaven), 8,8° bei Feuerschiff Elbe 1. Da der Salzgehalt für die Zusammensetzung einer Phytoplanktongemeinschaft eine wesentliche Rolle spielt, wurden die Ergebnisse unserer Salzgehaltsbestimmungen in Abb. 2 zusammengefaßt. Es ergibt sich der für

eine Flußmündung typische Verlauf. Flußabwärts von Blankenese bis etwa Glückstadt-Scheelenkuhlen sind die Werte noch recht niedrig. Von hier ab beginnt dann der schnellere Anstieg, der sich bis zur See hin fortsetzt. Unregelmäßigkeiten im Kurvenverlauf erklären sich durch die notwendigen Fahrtunterbrechungen während der Untersuchungen bzw. durch den Tidenverlauf während der Fahrt.

Die pH- und SBV-Werte zeigen das typische, schon in unseren früheren Untersuchungen angegebene Bild. Nach See hin nehmen beide Werte etwas zu. Die pH-Werte liegen zwischen 7,4 und 7,8; die SBV-Werte zwischen 1,9 (km 635 Blankenese) und 3,2 (Westwasserzone).

Die Bestimmung auf Ammonium und Nitrit ist nicht auf allen Fahrten gemacht worden. Wo diese Stoffe bestimmt wurden, zeigt sich, daß die Werte im Hamburger Gebiet durch Abwässer relativ hoch sind und nach See hin abnehmen. In Cuxhaven können sich die Werte durch die Einleitung städtischer Abwässer und Absterbevorgänge im Plankton erhöhen. Ähnliches gilt auch für die Nitratwerte. Die Werte des Gesamtphosphors zeigen auf der Strecke zwischen Hamburg und Cuxhaven keine allzu großen Schwankungen. In der Außenelbe nach See hin ist im allgemeinen eine Abnahme festzustellen, die einmal durch die Aufmischung mit dem phosphatarmen Seewasser, zum anderen durch die Zehrungsvorgänge zu erklären ist. Besonders interessant sind die Verhältnisse beim Silizium, das ein wichtiger Baustoff der Kieselalgen ist. In unseren früheren Untersuchungen (1953 u. 1954) konnten wir bereits auf gewisse Beziehungen zwischen dem Bestand an Diatomeen und dem Vorkommen von Silizium hinweisen. In dem vorliegenden Material wurde nicht nur die Menge der lebenden, sondern auch die der toten Phytoplankter erfaßt. (Fahrten Mai und November 1956). Auf diese Weise ist es möglich, die Beziehungen deutlicher zum Ausdruck zu bringen. In Abb. 3 ist für die Fahrten Mai und November 1956 die Kurve des Siliziumgehaltes derjenigen des prozentualen Anteils toter Phytoplankter im Gesamtphytoplankton gegenübergestellt. Dieser Vergleich zeigt deutlich:

Mit der Zunahme des prozentualen Anteils toter Diatomeen steigt auch der Siliziumgehalt im Wasser und umgekehrt.

Neben den bisher besprochenen hydrographisch-chemischen Faktoren bestimmten wir auf den Fahrten an den ausgewählten Stationen den Trübungswert und den Gehalt an Seston und organischer Substanz. Die hierbei gefundenen Werte sind in der Abb. 4 dargestellt. Die Trübung erreicht ihre höchsten Werte zwischen Glückstadt und Brunsbüttel, also in dem Raum, in dem sich der erste Einfluß des Salzgehalts bemerkbar macht. In der Außenelbe, seewärts von Cuxhaven, nimmt die Trübung durch Aufmischung mit dem Seewasser ab. Parallel zu den Trübungswerten (K-Wert) verläuft die Kurve des Sestons (Seston mg/l). Beide Kurven unterliegen im Untersuchungsgebiet erheblichen Schwankungen. Wesentlich ausgeglichener ist

die Kurve für die im Seston enthaltene organische Substanz. Die starken Schwankungen der Trübungswolke bestehen also zum größeren Teil aus anorganischen Bestandteilen. Hierfür ist einmal das normale hydrographische Geschehen (Kühl u. Mann 1953, Lucht 1953, Lüneburg 1939) verantwortlich, wie wir es in allen Tideflüssen wiederfinden, zusätzlich werden aber der Elbe durch die Hamburger Abwässer und Einschwemmungen aus den Nebenflüssen und Entwässerungsgräben große Mengen an Detritus zugeführt, die sich im Bild der Trübungskurve bemerkbar machen. Eine Beziehung zum Planktongehalt konnte hier nicht erwartet werden.

Die Ergebnisse der Albumin- und Chlorophyllbestimmung sind in Abb. 5 für alle Fahrten dargestellt. Auch hier konnten keine eindeutigen Beziehungen zum Phytoplankton festgestellt werden. Es ist möglich, daß hier ebenso, wie schon beim Seston ausgeführt, störende Einflüsse durch Abwässereinleitungen, Einschwemmungen usw. vorhanden sind, die das Bild beeinträchtigen. Ferner muß man sich vor Augen halten, daß das Phytoplankton nur zu einem sehr geringen Anteil an der Zusammensetzung der organischen Substanz und des Albumins beteiligt ist. So ist es auch nicht verwunderlich, daß die vom Phytoplankton gebildeten Mengen an Albumin und organischer Substanz auch nicht von wesentlichem Einfluß auf die Gesamtmengen dieser Substanzen im Fluß sind. Doch müssen wir darauf hinweisen, daß deutliche Parallelen zwischen den Kurven des Gehaltes an Seston bzw. organischer Substanz und denen des Gehaltes an Albumin zu verzeichnen sind.

Eines kommt bei allen Kurven deutlich zum Ausdruck, das ist der Abfall in der Außenelbe nach See zu. Höhere Werte in der polyhalinen Zone stehen möglicherweise mit der stärkeren Entwicklung von Phytoplankton in diesem Gebiet im Zusammenhang.

Hydrographische und chemische Ergebnisse der Untersuchungsfahrten

Ort	Tag	Std.	WT	Cl ‰	pH	SBV	Si mg/l	NH_4 mg/l	NO_2 mg/l	NO_3 mg/l	P_2O_5 Ges. γ/l	Trbg. K	Seston mg/l	Org. S. mg/l	Chlor-ph. γ/l	Albu-min mg/l
km 635	1955 9. 11.	1030	7,1	0,25									16,7	7,9	0,53	0,45
km 675		1315	7,6	0,25									23,8	4,9	0,77	0,55
km 685		1400	7,5	0,70									102,0	24,8	0,46	0,45
km 710		1515	7,7	4,96									78,7	25,0	0,77	0,15
km 724		1545	7,7	6,33									71,4	19,6	0,76	0,25
km 724	10. 11.	1030	8,3	12,13	7,5	2,5	3,2	0	+	8,25	60	54	43,9	10,1	0,70	0,45
FS E 3		1130	8,7	13,44	7,5	2,6	2,7	0	0	6,50	60	44	27,3	6,7	0,49	0,14
FS E 2		1215	9,1	15,69	7,6	2,4	1,7	+	+	3,50	69	54	20,6	5,0	0,34	0,60
FS E 1		1315	10,4	17,48		2,5	0,9			2,0	46	26	15,1	5,5	0,17	0,57
FS E 1	16. 11.	0950	9,6	17,23		2,6	1,5			1,5	55	24	18,2	7,2	0,17	0,55
FS E 2		1050	8,3	14,36	7,5	2,4	1,1			4,25	72	36	55,6	16,2	0,85	0,64
FS E 3		1145	7,6	12,20	7,5	2,4	2,0	0	0	6,25	69	74	89,8	21,6	0,73	0,55
km 724		1225	7,5	10,14	7,5	2,4	2,9	+	0,05	10,0	95	62	58,5	12,7	7,50	0,57
km 635	1956 11. 5.	1430	14,2	0,35		1,9	1,9			9,5	29	42	15,5	5,5		4,15
km 675		1745	13,5	0,39		2,9	3,0			12,0	23	28	16,3	4,0		1,56
km 685		1830	13,1	0,46		2,0	3,7			12,5	26	44	23,4	5,6		1,38
km 710		1945	12,5	0,82		2,1	4,8			14,7	32	90	55,0	8,7	0,29	1,60
km 724	12. 5.	1430	12,1	8,76		2,4	2,3			7,25	29	26	22,5	4,6	0,30	0,40
km 728		1455	11,2	12,52		2,5	1,4			6,5	23	28	8,9	0,7	0,85	0,33
FS E 3		1530	11,1	10,39		2,5	1,2			3,5	20	30	15,9		0,22	0,85
FS E 2		1620	10,6	14,40		2,6	1,0			3,25	14	26	10,6	6,1	0,29	0,85
FS E 1		1655	10,2	14,86		2,6	0,9			3,30	20	24	5,8	3,5	0,45	0,48

Ort	Tag	Std.	WT	Cl ‰	pH	SBV	Si mg/l	NH_4 mg/l	NO_2 mg/l	NO_3 mg/l	P_2O_5 Ges. γ/l	Trbg. K	Seston mg/l	Org. S. mg/l	Chlor-ph. γ/l	Albu-min mg/l
FS E 1	1956 17. 5.	1420	10,0	17,16		2,6		0	0	3,25	26	20				
FS E 2		1510	12,4	13,97	7,7	2,6	1,1	0	+	7,25	17	12				
FS E 3		1600	12,7	8,83	7,7	2,2	1,7	0	0,12	9,75	52	36				
km 728		1635	12,3	8,62	7,7	1,9	2,3	0	0,18	10,0	63	32				
km 724		1650	12,0	9,11	7,6	2,3	2,1	+	0,18	9,75	49	34				
km 635	17. 11.	0900	6,7	0,18		1,9	5,0			19,5	61	14	38,0	7,25	0,36	1,80
km 675		1130	6,2	0,18		2,3	4,3			20,7	58	36	38,8	6,38	0,38	6,60
km 685		1230	6,5	0,28		2,4	5,6			21,0	75	66	15,0	4,12	0,37	3,0
km 700		1310	6,5	0,85		2,7	5,7			23,0	78	110				
km 710		1430	7,0	6,49		3,0	4,2			13,7	66	58	47,4	7,73	0,19	3,10
km 724		1505	7,3	8,33		2,7	3,7			14,0	61	60	120,0	30,46		2,90
km 724	18. 11.	0840	6,7	3,40	7,4	3,0	4,4	+	0,1	13,75	60	180	103,1	17,46	0,44	4,50
km 728		0920	6,7	4,01	7,4	2,8	4,8	0,5	0,1	18,75	55	98	67,8	12,22	0,11	4,10
FS E 3		1005	7,1	9,57	7,5	2,9	3,0	+	+	9,25	55	136	138,5	20,9	0,48	4,90
FS E 2		1125	8,0	13,51	7,5	3,2	2,6	0	+	4,50	52	28	32,4	5,95	0,83	1,30
FS E 1		1235	8,8	16,49	7,5	2,9	1,5	0	+	2,25	49	10	26,6	12,95	0,55	0,30
FS E 1	22. 11.	1210	6,9	17,48	7,7	2,9	0,8	0	0	2,0	26	16	10,6	1,71	0,55	0,21
FS E 2		1300	6,2	14,82	7,8	3,0	1,6	0,5	+	4,75	35	22	20,5	3,31		0,30
FS E 3		1340	5,2	11,54	7,6	3,0	2,7	+	0,05	8,25	43	62	74,7	10,42	0,68	0,67
km 728		1515	4,2	8,55	7,5	2,8	3,6	+	0,08	15,0	52	80	61,0	10,26	0,61	0,57
km 724		1530	4,8	7,34	7,5	2,8	3,9	+	0,10	15,0	63	104	135,5	22,58	0,35	1,58
km 724	16. 11.	0835	6,2	4,90	7,7	2,7	3,0	0,5	+	13,75	86	78	17,9	3,31	0,37	3,45
km 710		0900	6,6	2,90	7,7	2,7	3,9	0,5	0,1	15,0	133	98	39,5	7,10	0,42	6,0
km 685		1010	6,4	0,20	7,4	2,3	3,4	1,5	+	22,75	115	44	78,5	12,42	0,26	3,30
km 675		1045	6,2	0,16	7,4	2,4	3,4	1,5	+	11,0	121	52	50,0	7,44	0,44	4,85
km 635		1245	6,5	0,16	7,4	2,2	1,9	1,5	+	9,75	76	36	70,6	13,73	0,37	1,50

III. Phytoplankton

1. Methodik

In der vorliegenden Arbeit wurde das Phytoplankton in gleicher Weise wie bei unseren früheren Untersuchungen über die Verteilung des Planktons während einer Tide (Bursche, Kühl u. Mann 1958) bearbeitet. Es wurden Schöpfproben von der Oberfläche an den oben gekennzeichneten Stationen entnommen und an Ort und Stelle zu 100 ccm Probenwasser 1 ccm Lugolsche Lösung und im Laboratorium 1 ccm Formalin zugegeben. Bei der Bearbeitung des Planktons der ersten Fahrt vom November 1955 wurden noch nicht lebende und tote Formen bei allen vorkommenden Algen unterschieden; auf Grund der Erfahrungen dieser Fahrt wurde bei den zwei folgenden Fahrten (Mai und November 1956) das Plankton getrennt nach toten und lebenden Individuen mit dem Utermöhlschen Mikroskop ausgezählt. Es war jedoch nicht möglich, alle Formen nach Arten zu erfassen. Schon Hentschel (1942) weist auf die Schwierigkeiten bei der Durchführung derartiger Arbeiten hin. Es sind deshalb zum Teil nur Gattungen oder sogar Gruppen wie „unbestimmbare Diatomeen" angegeben worden. Gezählt wurden in der Regel Einzelzellen; nur bei *Skeletonema costatum* gilt ein Faden mit einer durchschnittlichen Zellenzahl von 7 bis 8 Zellen oder bei *Scenedesmus* und *Pediastrum* ein Coenobium als ein Organismus. Auch in dieser Arbeit fand wieder nur das Schöpfplankton Berücksichtigung, obwohl ebenfalls Netzplankton quantitativ entnommen und auch im umgekehrten Mikroskop bearbeitet worden ist. Da jedoch in der überwiegenden Zahl der Fälle die in der Volumeneinheit der Probe ermittelten Individuenzahlen beim Netzplankton geringer waren als beim Schöpfplankton, ist das Netzplankton bei der Auswertung der Ergebnisse unbeachtet geblieben, zumal das Zooplankton nicht in die Bearbeitung einbezogen wurde. In der Regel sind 1, 5 oder 10 ccm des Probenwassers durchgezählt worden. Da der Detritusgehalt des Elbewassers vielfach sehr groß war, konnten größere Wassermengen nicht durchmustert werden. Gegebenenfalls mußten mehrere 1- oder 10-ccm-Kammern ausgezählt werden, Probenmengen jedenfalls, die nach Hentschels Untersuchungsergebnissen die beste Ausbeute bei der Bearbeitung des pflanzlichen Planktons liefern.

2. Gesamtphytoplankton

Das Phytoplankton des von uns untersuchten Elbeabschnitts setzt sich aus der Mischung zweier ganz verschiedener Planktongemeinschaften zusammen. Einerseits haben wir bei Flußkilometer 635 (Blankenese) ein reines Flußplankton, auf der anderen Seite finden wir auf der äußersten Station, dem Feuerschiff Elbe 1, ein Küstenplankton. In dem Mündungsgebiet mischen sich beide Wasserkörper in breiter Front. Durch die jeweilige Einwirkung des gegensätzlichen Wasserkörpers auf das Phytoplankton, z. B. Meerwasser auf Süßwasserplankton, wird eine ungünstige oder sogar ver-

nichtende Wirkung ausgeübt. Möglicherweise wird im Gebiet der Trübungszone (Gessner 1957, Kolbe 1927, Välikangas 1923) auch die starke Lichtabsorption, die im Durchschnitt nach Gessner in 15 cm Wassertiefe schon 68 % des einfallenden Lichtes beträgt, eine negative Rolle spielen. Im Trübungszentrum, das zwischen Glückstadt und Brunsbüttel hin- und herpendelt, gestalten sich die Lichtverhältnisse besonders ungünstig. Die Lichtdurchlässigkeit des Wassers wird also auf der untersuchten Strecke sehr unterschiedlich sein, was sich sicher auch auf den Umfang der Phytoplanktonentwicklung auswirkt. Hinzu kommt noch, daß in der Trübungszone durch die starke Bewegung der Trübungsteilchen die Entwicklung rein mechanisch erheblich beeinträchtigt werden kann. Ähnliche Erscheinungen sind vom Neusiedler See (Geyer u. Mann 1939) her bekannt. Schließlich spielen auch die Abwasserzuflüsse in der Elbe für die Zusammensetzung der Phytoplanktongemeinschaft eine Rolle.

Das Phytoplankton nimmt deutlich von Blankenese (Flußkilometer 635), unserer obersten Station, in Richtung auf die See hin ab (Abb. 6). Die größten Phytoplanktonzahlen finden wir bei Glückstadt (km 675) und Scheelenkuhlen (km 685), die geringsten in der Außenelbe bei den Feuerschiffen Elbe 1 und Elbe 2. Das Phytoplanktonmaximum bei Glückstadt und Scheelenkuhlen ist offensichtlich auf die düngende Wirkung der Hamburger Abwässer zurückzuführen. Das Hamburger Abwasser wird auf der Strecke bis Schulau-Wedel (km 640) mineralisiert und bildet die Grundlage für die starke Phytoplanktonentwicklung auf der Strecke etwas weiter abwärts. Auch die von Kolbe, Välikangas u. a. erwähnte stimulierende Wirkung des Salzgehalts auf die halophilen Formen mag sich in diesem Gebiet bemerkbar machen.

Betrachtet man das Verhältnis lebender zu toten Algen, so wird das zuvor Gesagte noch einmal bestätigt. Ganz allgemein ist der Prozentsatz der toten Formen im Verhältnis zum Gesamtphytoplankton sehr hoch, durchschnittlich jedenfalls viel höher als normalerweise im Süßwasser. In der Gegend von Blankenese (km 635) findet das Süßwasserplankton gute Lebensbedingungen und weist einen dementsprechenden Individuenreichtum auf. Unterhalb Blankenese nimmt der Anteil toter Algen sehr bald zu. Er besteht zum größten Teil aus abgestorbenen Cyclotellen bzw. Stephanodiscen, *Melosira*-Arten und „unbestimmbaren" Diatomeen. Da beim Auszählen dieser Algen in keinem Fall die Arten mit Sicherheit getrennt werden konnten, ist es auch nicht möglich, anzugeben, welche Oekotypen im engeren Sinne diesem Absterbeprozeß anheimfallen. Er kann aber wohl allgemein darauf zurückgeführt werden, daß bei Glückstadt (km 675) die obere Brackwassergrenze verläuft. Das hat zur Folge, daß alle salzempfindlichen Formen absterben, während die indifferenten, besonders aber die halophilen Algen, günstige Lebensverhältnisse vorfinden.

Welche Algen bedingen die Planktonmaxima? Im November 1955 sind es cyclotellaartige Diatomeen, *Melosira*-Arten *(granulata* und *ambi-*

qua), *Ankistrodesmus falcatus* und *Scenedesmus*-Arten gewesen, deren Individuenzahl von Blankenese bis Scheelenkuhlen zunahm.

Am 11. Mai 1956 waren es ebenfalls die cyclotellaartigen Formen, *Ankistrodesmus falcatus* sowie *Nitzschia acicularis*, die in erster Linie bei Glückstadt den größeren Individuenreichtum gegenüber Blankenese herbeiführten.

Am 17. November 1956 kamen sowohl die cyclotellaartigen und *Ankistrodesmus*- als auch einige *Scenedesmus*-Arten bei Scheelenkuhlen in größerer Anzahl vor als bei Blankenese.

Am 16. November 1956 ist der erhöhte Individuenreichtum von *Melosira* ausschlaggebend für den Planktonreichtum bei Glückstadt.

Auch am 17. November 1956 war *Melosira* bei Glückstadt doppelt so stark vertreten wie bei Blankenese, doch sind die anderen Algen dort nur in geringfügigerer Anzahl vorhanden gewesen. Interessant ist ein Vergleich zwischen den Fahrten am 11. Mai und 17. November 1956. Bei der Maifahrt nimmt der Salzgehalt auf der Strecke bis Otterndorf (km 710) kaum zu, wohingegen am 17. November von Brunsbüttel (km 700) ab eine außerordentlich starke, sprunghafte Zunahme auftritt. Dementsprechend nimmt die Gesamtzahl der Phytoplankter im Mai auf der Strecke nicht im gleichen Maße wie bei der Fahrt im November ab. Die größere Gesamtmenge des Phytoplanktons im Mai mag auf die jahreszeitlichen Unterschiede zurückzuführen sein.

In der Gegend der Medem-Mündung—Otterndorf (km 710), der oberen Grenze der meio-mesohalinen Zone, ist auffallend wenig Plankton zu finden. Hier macht sich die sprunghafte Steigerung des Salzgehalts, der außerdem noch ständigen Schwankungen unterworfen ist, stark bemerkbar. Im Gebiet der Feuerschiffe, also in der Außenelbe, sind zwar die absoluten Individuenzahlen nicht so hoch, aber der Anteil der toten Formen ist außerordentlich gering. Es handelt sich um ein marines Phytoplankton, das bei diesen Salzgehalten gute Lebensbedingungen findet. Bei Feuerschiff Elbe 3, wo die Sprungzone beginnt, ändert sich auch ebenso „sprunghaft" die Planktonzusammensetzung.

3. Meeresalgen

a) Artenbestand:

Die Abbildung 7 gibt einen Überblick über den wechselnden Artenbestand in der Phytoplanktongesellschaft auf der Untersuchungsstrecke. In dieser Abbildung kamen nur lebende Formen zur Darstellung, und zwar solche, die bei der Auswertung der Planktonproben eindeutig als Art erkannt werden konnten, ferner nur diejenigen Arten, die als Meeres- oder Süßwasseralgen in ihren Milieuansprüchen bekannt sind. *Coscinodiscus*-Arten sind zusammengefaßt, weil sie lebend oft nicht auf die Art hin bestimmt werden konnten, denn das Chloroplastenmosaik verdeckt bei der

„schwachen" Zählvergrößerung die Wandstruktur. Für die *Chaetoceras*-Gruppe gilt das gleiche.

Die Grenze für die Meeresalgen liegt im großen und ganzen bei Otterndorf (km 710). Selbstverständlich wird diese Grenze durch die ständig wechselnden Tiden und Oberwassermengen (Bursche, Kühl u. Mann 1958) hin- und hergeschoben, so daß auch gelegentlich weit oberhalb noch Meeresformen zu finden sind. So war z. B. diese Grenze am 11. Mai 1956 elbeaufwärt und am 16. November 1956 elbeabwärts verschoben. Zu berücksichtigen ist außerdem noch, daß die weiter oberhalb vorkommenden Meeresplankter nur durch einige wenige Individuen repräsentiert werden, diese aber das Gesamtbild der Phytoplanktongesellschaft nicht maßgebend beeinflussen. Das Artenmaximum der Meeresplankter ist nicht an eine bestimmte Untersuchungsstation gebunden, sondern liegt fast bei jeder Untersuchungsfahrt an einer anderen Station. Selbstverständlich spielt hierfür der Salzgehalt eine ausschlaggebende Rolle. Bei einem Vergleich der Salzgehalte mit der Artenzahl hinsichtlich Größenordnung und Tendenz der Werte zeigt sich daher auch eine gute Übereinstimmung.

Besonders deutlich kommen diese Zusammenhänge zum Ausdruck, wenn man die Form der Salzgehaltskurve betrachtet und eine Trennung in Außenelbe (unterhalb von Cuxhaven) und Unterelbe (oberhalb von Cuxhaven) vornimmt. Am 10. November 1955 und 12. Mai 1956 z. B. ist der Salzgehalt in der Außenelbe hoch, dementsprechend ist auch die Artenzahl der Meeresplankter recht hoch. Im November 1956 fällt der Salzgehalt elbeaufwärts sehr stark ab, das gleiche gilt auch für die Artenzahl der Meeresformen. Auf der Unterelbe, also oberhalb Cuxhavens, lassen sich die Fahrten vom 9. November 1955 und 17. November 1956 derjenigen vom Mai 1956 gegenüberstellen. In den Novemberproben sind die Meeresplankter entsprechend dem höheren Salzgehalt stärker vertreten, während sie im Mai bei einem niedrigeren Salzgehalt auch nur in geringeren Mengen vorkommen. Außerdem darf bei dem Vergleich der Artenzahlen von Süß- und Seewasserformen nicht übersehen werden, daß neben dem direkten Einfluß des Salzgehalts noch die Vermischung mit dem planktonarmen Meerwasser eine Rolle spielt. So kann es vorkommen, daß bei Feuerschiff Elbe 1 die Artenzahl der Meeresplankter kleiner ist als bei Feuerschiff Elbe 2. Weiterhin spielt die Wasserführung, d. h. die Menge des Oberwassers, für das Auftreten von Meeresformen im Mündungsgebiet eine Rolle. Durch die größeren Mengen Süßwasser kann der Salzgehalt in seiner Höhe bei den Stationen stark beeinflußt werden (vgl. Mai und November 1956 Unterelbe Abb. 2).

Zur Zeit der Untersuchungen lag die Verbreitungsgrenze einzelner mariner Algen bei folgenden Stationen:

Feuerschiff Elbe 1 bis Elbe 2:
Dinophysis acuta, Dictyocha fibula,

Cuxhaven (km 720):

Biddulphia sinensis und *B. mobiliensis, Rhizosolenia hebetata* und *R. imbricata, Skeletonema costatum, Asterionella japonica,* eine ähnliche Form wie *Asterionella kariana, Thalassionema nitzschioides, Eucampia zoodiacus, Nitzschia closterium,*

oberhalb von Cuxhaven:

Biddulphia aurita, Actinoptychus undulatus und *Coscinodiscus*-Arten.

b) Individuenzahl:

Abbildung 8 läßt deutlich erkennen, daß das Meeresphytoplankton im Mai 1956 viel individuenreicher war als im November 1956. Dieser Individuenreichtum der Maiproben beruhte in erster Linie auf dem Vorkommen von *Skeletonema costatum* und *Nitzschia closterium* wie *Rhizosolenia*-Arten. In den Novemberproben trat keine Meeresalge in so reicher Zahl auf wie im Mai. Die auffallenden mengenmäßigen Unterschiede in den Monatsserien sind allein auf jahreszeitlich bedingte Unterschiede in der Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft zurückzuführen. Die Individuenzahl der Meeresphytoplankter nimmt in der Unterelbe entsprechend der Zunahme des Süßwassers ab. Auffällig sind die hohen Individuenzahlen in der polyhalinen Zone zwischen Cuxhaven und Feuerschiff Elbe 3. In diesem Gebiet werden die Nährstoffe verbraucht, die in der oberhalb liegenden Absterbezone frei wurden. Bereits Thiemann (1934) hatte auf die Massenentwicklung von Phytoplankton im Raum von Feuerschiff Elbe 3 hingewiesen.

4. Süßwasseralgen

a) Artenbestand:

Die Anzahl der Süßwasserarten ist bei Blankenese (km 635), unserer obersten Station, am höchsten. Von Glückstadt ab macht sich in zunehmendem Maße der Salzgehalt bemerkbar, der immer mehr Süßwasserarten aus der Phytoplanktongemeinschaft verschwinden läßt, wie auch von anderen Flußmündungsgebieten gut bekannt ist (Gessner 1957, Kraefft 1908, Thiemann 1934). Wenn der Süßwasserartenbestand z. B. bei Cuxhaven (km 725) um ein bis zwei Arten reicher ist als bei Otterndorf (km 710), so besagt das nichts Grundsätzliches. In diesem Gebiet kommen die Süßwasseralgen z. T. nur noch in ganz geringer Individuenzahl vor, und es liegt in der Natur der Untersuchungsmethodik, daß bei der Durchsicht der Proben einer Untersuchungsstation die individuenarme Art einmal zufällig vorhanden ist und das andere Mal nicht. Man darf die angegebenen Werte demzufolge nur größenordnungsmäßig und nicht absolut betrachten.

Die vorhandenen Arten waren: *Stephanodiscus Hantzschii, Cyclotella Meneghiniana* und *Cyclotella Meneghiniana f. plana, Melosira granulata* und *M. ambigua, Asterionella formosa, Diatoma elongatum, Nitzschia acicularis, Scenedesmus* div. spec. und *Ankistrodesmus falcatus.* Ferner wäre

noch *Aktinocyclus Normanii* zu nennen, die nur mit Vorbehalt unter den Süßwasseralgen Erwähung finden darf. Wenn diese Kieselalge trotzdem an dieser Stelle angeführt wird, dann deshalb, weil die Untersuchungsergebnisse der Tagesserien bei Cuxhaven (Bursche, Kühl u. Mann 1958) gezeigt haben, daß *Actinocyclus Normanii* in ihrem tageszeitlichen Mengenvorkommen genau dem Rhythmus der Süßwasseralgen folgt. Dieses den Süßwasserphytoplanktern ähnliche Verhalten von *Actinocyclus Normanii* hatte auch schon Thiemann (1934) in seiner Arbeit hervorgehoben. Nach unseren und den Thiemannschen Untersuchungen kommt diese Diatomee zwischen Glückstadt und Cuxhaven vor. Wir möchten sie demzufolge nach Kolbe (1927) als stenohalinen Brackwassertyp bezeichnen, was der Hustedtschen Formulierung (1957) „β-mesohalob" wohl nicht widerspricht. Alle anderen zuvor angeführten Algen gehören zu den indifferenten Formen, bis auf die *Cyclotella*-Arten, die nach der Kolbeschen und Hustedtschen Definition dem ökologischen Typus der halophilen Algen zuzurechnen wären. Ihrem Vorkommen nach müßten auch *Ankistrodesmus falcatus* und *Scenedesmus quadricauda* dieser Gruppe zugerechnet werden. Das Verbreitungsgebiet von *Scenedesmus* reicht auch nach Thiemann über Cuxhaven hinaus.

b) Individuenzahl

In gleicher Weise, wie wir für die Artenzahl ausführten, ist auch die Individuenzahl der Süßwasserplankter zwischen Blankenese (km 635) und Glückstadt (675) am größten. Sie nimmt nach See hin deutlich ab. Jedoch spielt die Menge des Oberwassers eine wesentliche Rolle, ob Süßwasserformen bis Cuxhaven oder sogar darüber hinaus vordringen können. Nach unseren Untersuchungen können wir feststellen, daß bei Cuxhaven je nach der Wasserführung ein ausgesprochenes Mischplankton oder Küstenplankton vorherrscht. Dieser Flußabschnitt beherbergt also, nicht wie Bahr (1954) angibt, stets in beiden Tidenphasen, sondern nur zu gewissen Zeiten eine marine oder Küsten-Biocoenose. Vergleicht man Abbildung 8 mit der Abbildung 2, in der der Salzgehalt auf den Stationen dargestellt ist, so zeigen sich die Zusammenhänge zwischen Salzgehalt und Entwicklung des Süßwasserplanktons deutlich.

Wenige halophile Süßwasserphytoplankter können weit abwärts in der mesohalinen, z. T. sogar in der polyhalinen Zone in geringen Mengen lebend angetroffen werden. Ähnliche Beobachtung machten wir auch bei unseren Untersuchungen über den Wechsel der Planktonzusammensetzung bei Cuxhaven während einer Tide.

5. Diatomeen

Ein Großteil des Phytoplanktons in unseren Probeserien waren Diatomeen. Zur Zeit unserer Untersuchungen herrschten auch unter den Süßwasseralgen zumeist die Diatomeen vor und nicht, wie Thiemann (1934) für

seine Untersuchungen im Jahr 1932 angibt, die Grünalgen. Nur im November 1956 hatten an manchen Stellen die Grünalgen das Übergewicht. Bemerkenswert ist zunächst, daß im Mai die Anzahl der toten Individuen in der Unterelbe und der polyhalinen Zone besonders hoch ist. Im November 1956 übertrifft die Zahl der Toten bei weitem die der Lebenden. Auch hier bei den Diatomeen bestätigt sich wieder, daß die Individuenzahl im oberen Teil unserer Untersuchungsstrecke am stärksten ist, wie schon bei Besprechung des Gesamtphytoplanktons zum Ausdruck gebracht wurde.

IV. Besprechung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit haben wir versucht, den Aspektwechsel in der Zusammensetzung des Elbephytoplanktons mit den hydrochemischen Faktoren des Elbewassers in Zusammenhang zu bringen. Es zeigt sich, daß wir den höchsten Gehalt an Phytoplanktern im Raum von Blankenese-Glückstadt finden. In diesem Gebiet wirken sich sowohl die auf diesem Flußabschnitt größtenteils mineralisierten Hamburger organischen Abwässer als auch der stimulierende Effekt des Salzgehalts in der Weise aus, daß eine Vermehrung der Süßwasserplanktongemeinschaft eintritt. Weiter elbeabwärts wird diese Gemeinschaft durch den zunehmenden Salzwassereinfluß abgebaut, so daß wir dann zu einem Minimum im Gebiet von Otterndorf-Medem (km 710) kommen. Hier können nur noch diejenigen Süßwasserplankter leben, die auch einen größeren Salzwassergehalt vertragen können. Diese wenigen halophilen Formen können wir auch noch weiter elbeabwärts vorfinden. In dem gleichen Gebiet gehen auch diejenigen Salzwasserformen zugrunde, die den Transport in das salzärmere Wasser nicht vertragen. Außerdem wechselt hier mit Ebbe und Flut der Salzgehalt sehr stark (Sprungzone); das ist der Grund dafür, daß die Salzwasserformen schon auf relativ kurzer Strecke vernichtet werden. Diese Absterbezone stellt nun die Nährstoffbasis für ein zweites, marines Phytoplanktonmaximum dar, das sich zwischen Cuxhaven und Feuerschiff Elbe 3 befindet. Nach See zu „verdünnt" sich die Planktongemeinschaft recht schnell.

In einem langen Flußabschnitt ist es infolge der außerordentlich komplizierten Strömungsverhältnisse äußerst schwer, den Ablauf des hydrochemischen Geschehens mit dem biologischen Aspekt in Einklang zu bringen. Auffällig und klar sind die Beziehungen zwischen Salzgehalt und Phytoplankton (Abb. 2, 6—8). Recht gute Übereinstimmungen zeigen sich auch zwischen dem Gehalt an Silizium und der Menge der abgestorbenen Phytoplankter (Abb. 3). Ähnliche Abhängigkeiten müßten auch zwischen dem Phytoplankton, organischer Substanz, Eiweiß und Chlorophyll gelten. Hier liegen die Verhältnisse aber schwieriger, da wir mit unseren Bestimmungen nicht nur das Plankton, sondern auch andere allochtone Elemente miterfassen, die die Ergebnisse stark beeinflussen können. Trotz dieser Beeinflussungen lassen unsere Zahlenwerte für Trübung und Seston doch gewisse Beziehungen zur Phytoplanktonentwicklung erkennen. Dort,

wo der Gehalt an Gesamtplankton hoch ist, finden sich auch hohe Werte im Seston. Wesentlich schwieriger ist die Deutung der Untersuchungen über den Gehalt an Albumin und Chlorophyll. Die höchsten Werte an Albumin finden wir in den Gebieten starker Phytoplanktonentwicklung, so z. B. im Raum Glückstadt-Scheelenkuhlen oder bei Cuxhaven. Ähnlich wie bei Seston und organischer Substanz nimmt der Gehalt an Albumin nach See hin ab, da sich hier die Vermischung mit dem nährstoffärmeren Seewasser bemerkbar macht. Wesentlich gleichmäßiger ist der Verlauf der Kurve des Chlorophyllgehaltes; hier zeigen sich nur geringe Schwankungen auf dem gesamten Flußabschnitt, so daß auch keine weiteren Aussagen gemacht werden können.

Wenn wir abschließend das Ergebnis unserer Untersuchungen noch einmal überblicken, so läßt sich dies auf eine Formel bringen. Die Entwicklung der Phytoplanktongemeinschaft besteht aus zwei Komponenten, dem Süßwasser- und Küstenphytoplankton. Das erstere hat sein Maximum am oberen Ende des Untersuchungsgebietes, das zweite am unteren Ende. Jedoch liegt die Individuenzahl der Küstenplanktongesellschaft nach unseren Untersuchungen im Gegensatz zu den Angaben von Bahr (1954) nicht höher als die der Süßwassergemeinschaft. Auf dem mittleren Abschnitt mischen sich Süßwasser- und Küstenphytoplankton. Es bleiben von beiden Komponenten nur diejenigen am Leben, die den wechselnden Milieubedingungen dieses Abschnitts widerstehen können. Zur Frage der „Brackwasserformen" soll auf Grund der vorliegenden Untersuchungen nicht Stellung genommen werden.

Nicht zu vergessen ist die Menge des Oberwassers, die die räumliche Verteilung der verschiedenen Phytoplanktongemeinschaften beeinflußt. Bei großem Oberwasser geht das Süßwasserplankton wesentlich weiter flußabwärts als bei kleinem Oberwasser. Aus dem Wechselspiel zwischen Entstehen und Abbau des Planktons einerseits und Verbrauch und Freiwerden der Nährstoffe andererseits ergibt sich das jeweilige Bild in der Zusammensetzung der Planktongemeinschaften.

Artenliste*) und Verbreitungsangaben von den bei den Untersuchungsfahrten im November 1955, im Mai und November 1956 festgestellten Algen.

	Westwasser	Polyhaline Zone	Mesohaline Zone a	Mesohaline Zone b	Oligohaline Zone	Reines Flußwasser	Selbstreinigungszone
Oscillatoria Agardhii Gom.					■	■	■
Oscillatoria Redekei van Goor					■	■	■
Oscillatoria spec.							
Aphanizomenon flos-aquae (L.) Ralfs					■	■	■
Euglena spec.				■	■	■	■
Trachelomonas spec.							
Cryptomonas erosa Ehrenbg.				■	■	■	■
Dinophysis acuta Ehrenbg.	■	■					
Peridinium div. spec.	■	■					
Ceratium furca (E.) Clapar. et Lachm.	■	■					
Ceratium tripos O. F. Müller	■	■					
Chrysococcus spec. ?	■	■	■	■	■	■	■
Synura uvella Ehrenbg.					■	■	■
Dinobryon divergens Imhof							■
Dictyocha fibula Ehrenbg.	■						
Melosira dubia Kützing		■	■				
Melosira moniliformis (Müll.) Agardh.	■	■					
Melosira varians Agardh.					■	■	■
Melosira binderana Kützing					■	■	■
Melosira granulata (Ehrenbg.) Ralfs		■	■	■	■	■	■
Melosira ambigua (Grun.) Müller		■	■	■	■	■	■
Melosira distans (Ehrenbg.) Kützing		■	■	■	■	■	■
Melosira sulcata (Ehrenbg.) Kützing	■	■	■	■			
Sceletonema costatum (Grev.) Cleve	■	■	■				
Thalassiosira spec.							
Cyclotella Meneghiniana Kützing		■	■	■	■	■	■
Cyclotella Meneghiniana f. plana Fricke		■	■	■	■	■	■
Cyclotella striata (Kütz.) Grunow		■	■	■	■	■	■
Stephanodiscus Hantzschii Grunow					■	■	■
Coscinodiscus excentricus Ehrenbg.							
Coscinodiscus lineatus Ehrenbg.							
Coscinodiscus radiatus Ehrenbg.	■	■					

*) Die Artenliste erhebt keinerlei Anspruch auf Vollständigkeit. Die Verbreitungsangaben beziehen sich auf die Fundstellen. Das Vorkommen ist nicht angegeben, wenn es sich um Arten handelt, die als solche nicht in allen Proben identifiziert werden konnten, oder die nur an ein oder zwei Stationen vorhanden waren. Nur lebend vorkommende Algen sind berücksichtigt.

	Westwasser	Polyhaline Zone	Mesohaline Zone a	Mesohaline Zone b	Oligohaline Zone	Reines Flußwasser	Selbstreinigungszone
Coscinodiscus lacustris Grunow							
Coscinodiscus concinnus W. Smith	—	—	—				
Actinocyclus Normanii Gregory		—	—	—	—		
Actinoptychus undulatus (Bail.) Ralfs	—	—	—	—	—		
Aulacodiscus argus (Ehrenbg.) A. Schmidt							
Auliscus sculptus (W. Sm.) Ralfs							
Leptocylindricus spec.							
Guinardia flaccida (Castr.) Peragallo	—	—					
Rhizosolenia Stolterfothii Peragallo	—	—	—				
Rhizosolenia imbricata Brightwell	—	—					
Rhizosolenia setigera Brightwell	—	—					
Rhizosolenia hebetata f. semispina (Hensen) Gran Nord	—	—					
Chaetoceros borealis Bailey, Smithson	—	—					
Chaetoceros decipiens Cleve *spec.* ?	—	—					
Chaetoceros teres Cleve	—	—					
Chaetoceros didymus Ehrenbg.	—	—					
Chaetoceros socialis Lauder	—	—					
Eucampia zoodiacus Ehrenbg.	—	—					
Ditylium Brightwellii (West) Grunow	—	—	—				
Lithodesmium undulatum Ehrenbg.							
Triceratium favus Ehrenbg.	—						
Triceratium alternans Bailey, Smithson	—						
Biddulphia sinensis Greville	—	—					
Biddulphia regia (Schultze) Ostenfeld	—	—	—				
Biddulphia mobiliensis Bailey	—	—					
Biddulphia rhombus (Ehrenbg.) W. Smith	—	—					
Biddulphia aurita (Lyngb.) Brébisson u. Godey	—	—	—	—			
Cerataulina bergoni Peragallo	—	—					
Diatoma elongatum (Lyngh) Agardh					—	—	—
Fragilaria crotonensis (Kitton)					—	—	—
Fragilaria capucina Desmaziéres							—
Fragilaria spec.	—	—					
Raphoneis amphiceros Ehrenbg.	—	—	—	—			
Synedra acus Kützing				—	—	—	—
Synedra ulna (Nitzsch) Ehrenbg.					—	—	—
Thalassionema nitzschioides Grunow	—	—					
Asterionella formosa Hassall			—	—	—	—	—

	Westwasser	Polyhaline Zone	Mesohaline Zone a	Mesohaline Zone b	Oligohaline Zone	Reines Flußwasser	Selbstreinigungszone
Asterionella japonica CLEVE	▬	▬					
Asterionella kariana-ähnliche Alge	▬	▬					
Navicula viridula KÜTZING							
Navicula gracilis EHRENBG.							
Navicula rhynchocepala KÜTZING							
Navicula halophila (GR.) CL.							
Pinnularia spec.							
Pleurosigma spec.							
Nitzschia acicularis W. SM.			▬	▬	▬	▬	▬
Nitzschia closterium W. SM.	▬	▬					
Nitzschia actinastroides (LEMM) v. GOOR					▬	▬	▬
Nitzschia tryblionella (HAUTZSCH) GRUN.							
Nitzschia longissima (BRÉB.) RALFS *spez.* ?	▬	▬	▬				
Nitzschia seriata CLEVE	▬	▬	▬				
Nitzschia fraudentula CLEVE	▬						
Surirella ovata KÜTZING				▬	▬	▬	▬
Campylodiscus Clypeus (EHRENBG.) W. SM.							
Campylodiscus echeneis (EHRENBG.) V. H.							
Chlamydomonas spec.							▬
Phacotus lenticularis EHRENBG. (STEIN)							▬
Pandorina morum (MÜLLER) BORY							▬
Dictyosphaerium Ehrenbergianum NAEG.				▬	▬	▬	▬
Pediastrum Boryanum (TURP.) MENEGH.		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Pediastrum duplex MEYER			▬	▬	▬	▬	▬
Pediastrum simplex MEYER							
Oocystis spec.		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Ankistrodesmus falcatus (CORDA) RALFS	▬	▬	▬	▬	▬	▬	▬
Kirchneriella spec.		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Tetraedron caudatum (CORDA) HANSG.				▬	▬	▬	▬
Tetraedron minimum (A. BR.) HANSG.							
Tetraedron trigonum (NAEG.) HANSG.			▬	▬	▬	▬	▬
Scenedesmus quadricauda (TURP) BRÉB.		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Scenedesmus hystrix LAGERH.					▬	▬	▬
Scenedesmus acuminatus (LAG.) CHOD.		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Scenedesmus obliquus (TURP.) KÜTZ.		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Crucigenia rectangularis (NAEG.) GAY		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Crucigenia quadrata MORREN		▬	▬	▬	▬	▬	▬
Tetrastrum staurogeniaeforme (SCHRÖDER) LEMM.		▬	▬	▬	▬	▬	▬

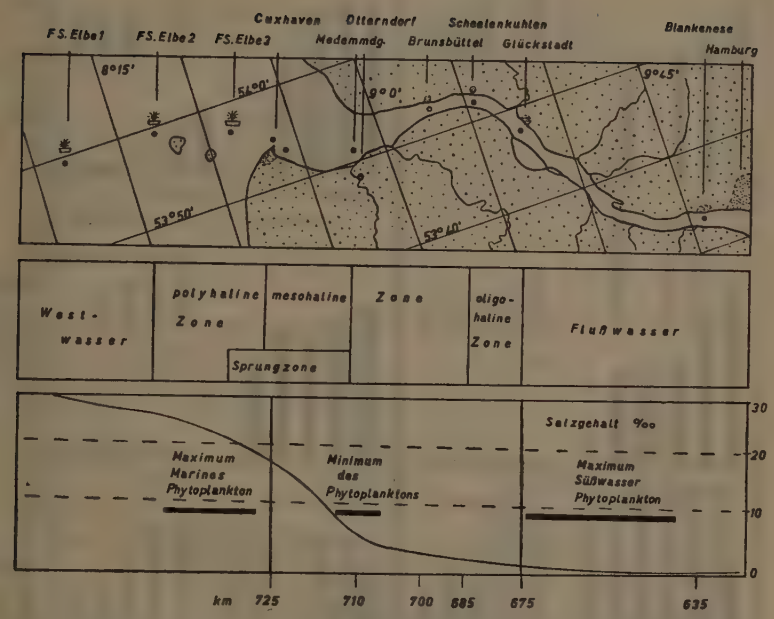

Abb. 1. Übersichtsplan der Unter- und Außenelbe von Hamburg bis Feuerschiff Elbe 1, mit Angaben der Stationen, Zoneneinteilung, Salzgehaltsverlauf, Maximum des Süßwasser- und des marinen Phytoplanktons und des Minimums des Phytoplanktons.

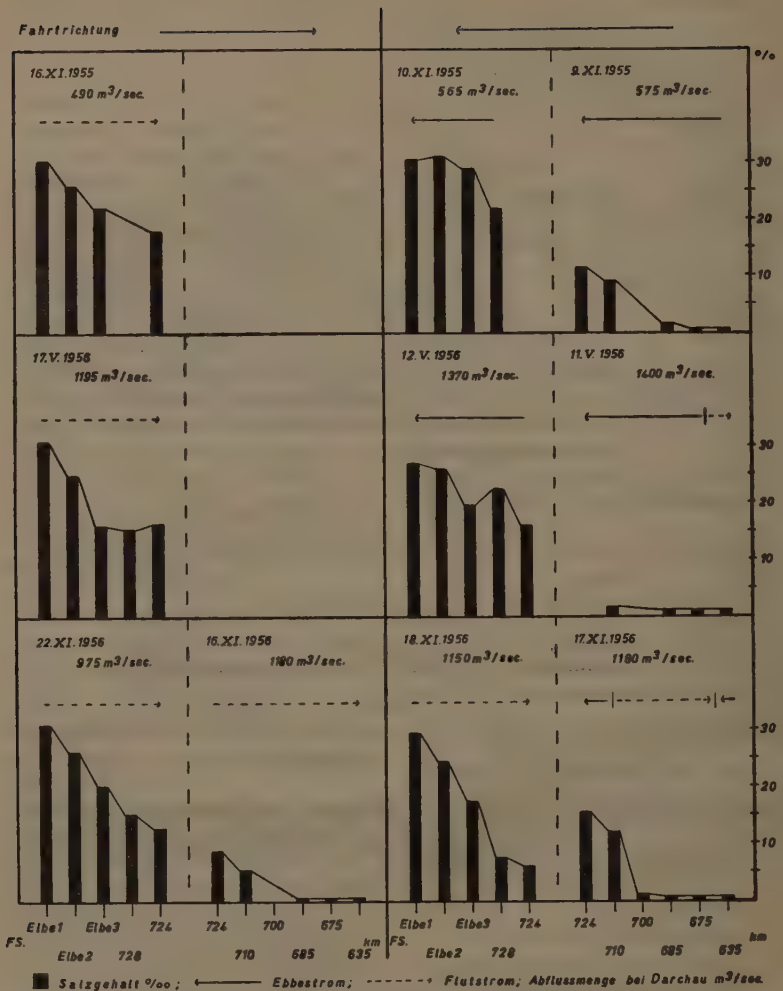

Abb. 2. Der Salzgehalt an den Untersuchungsstationen während der Fahrten im November 1955, Mai und November 1956. Angaben über die Abflußmenge bei Darchau an den betreffenden Tagen, Fahrtrichtung und Ebbe und Flut.

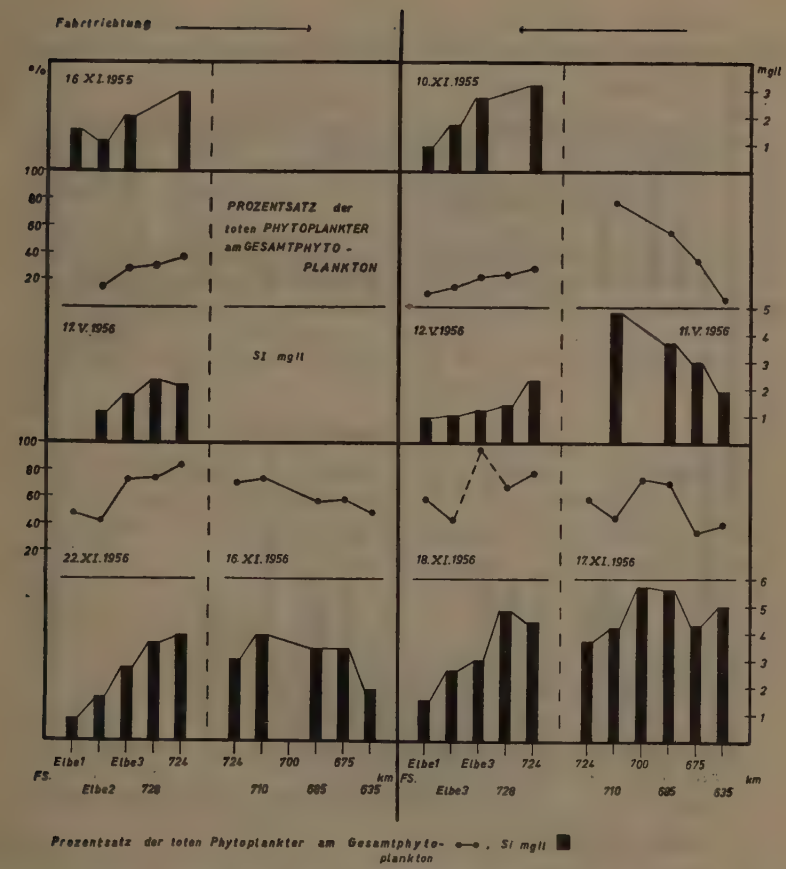

Abb. 3. Silizium (mg/l) an den Stationen. Eingetragen ist ferner noch der Anteil der abgestorbenen Phytoplankter (%) am Gesamtphytoplankton. Tidenverhältnisse s. Abb. 2.

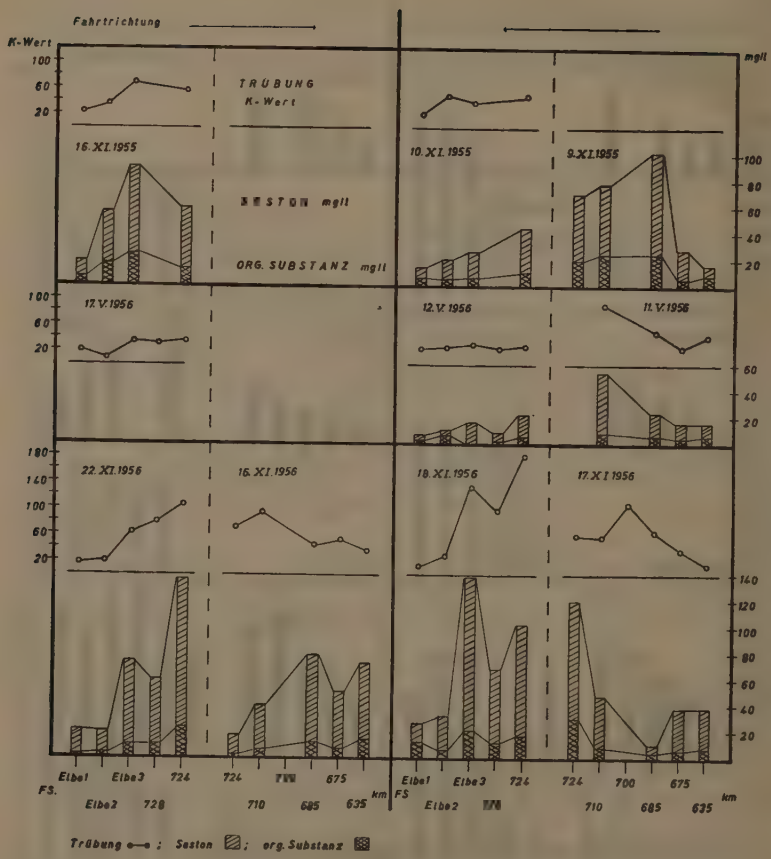

Abb. 4. Trübung (K-Wert), Seston (mg/l) und organische Substanz (mg/l).

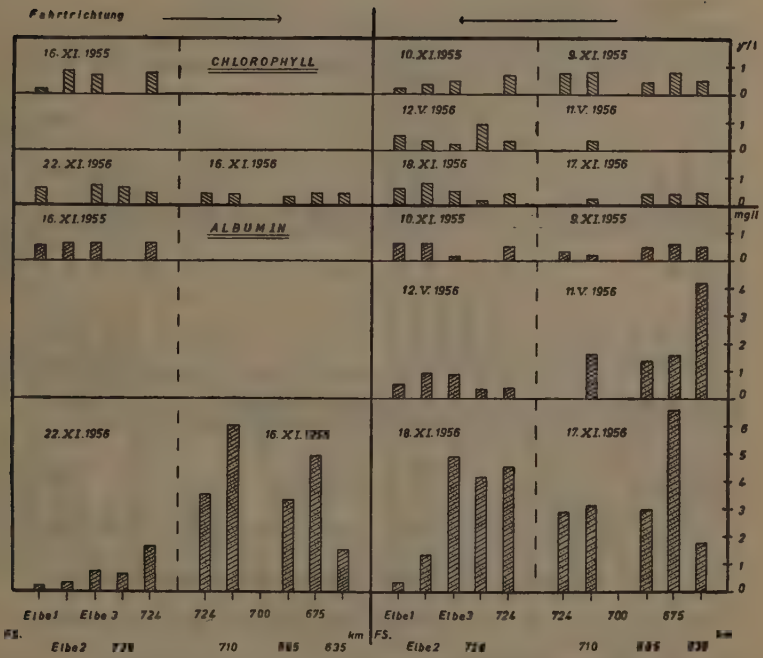

Abb. 5. Chlorophyll (γ/l) und Eiweiß (mg/l).

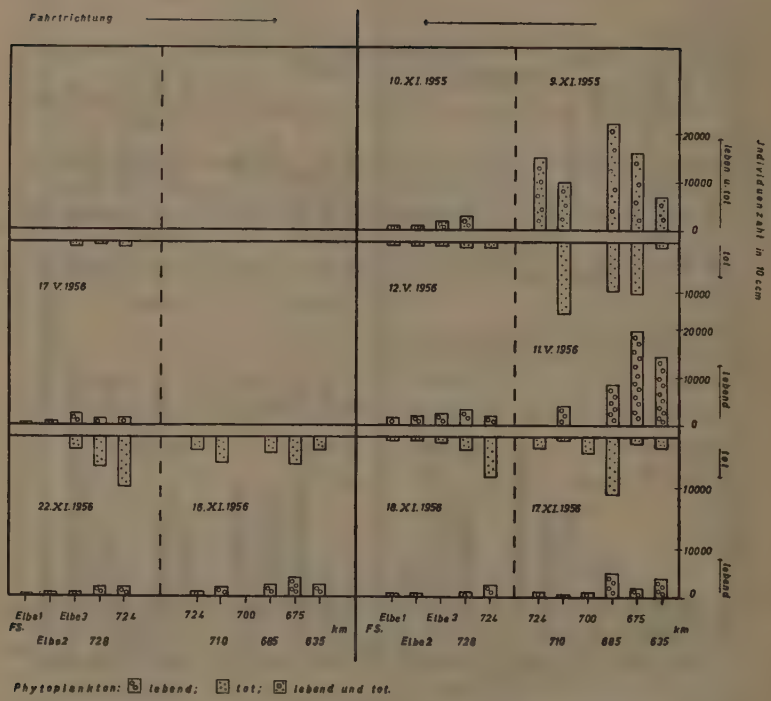

Abb. 6. Lebende und tote Phytoplankter in 10 ccm Wasser. Auf der Novemberfahrt wurde nicht nach lebenden und toten Phytoplanktern getrennt.

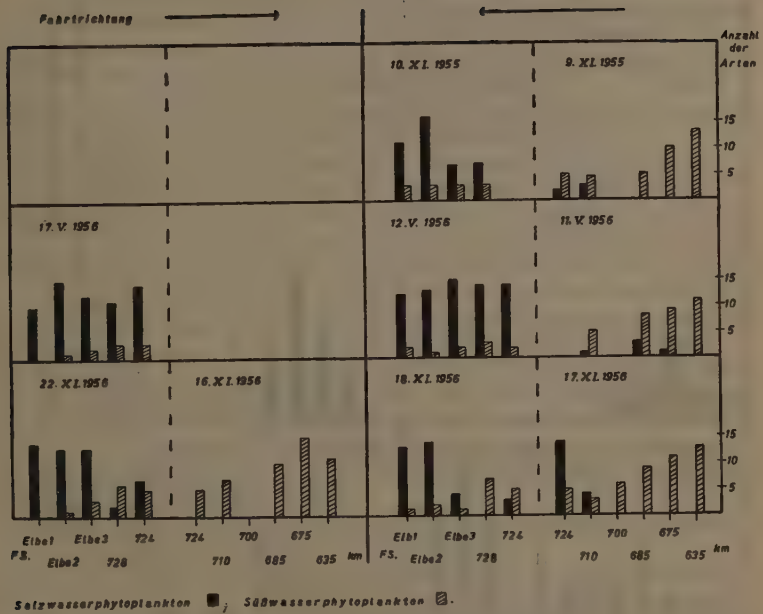

Abb. 7. Artenzahl der Süßwasser- und Seewasserphytoplankter auf der Unter- und Außenelbe während der Untersuchungsfahrten.

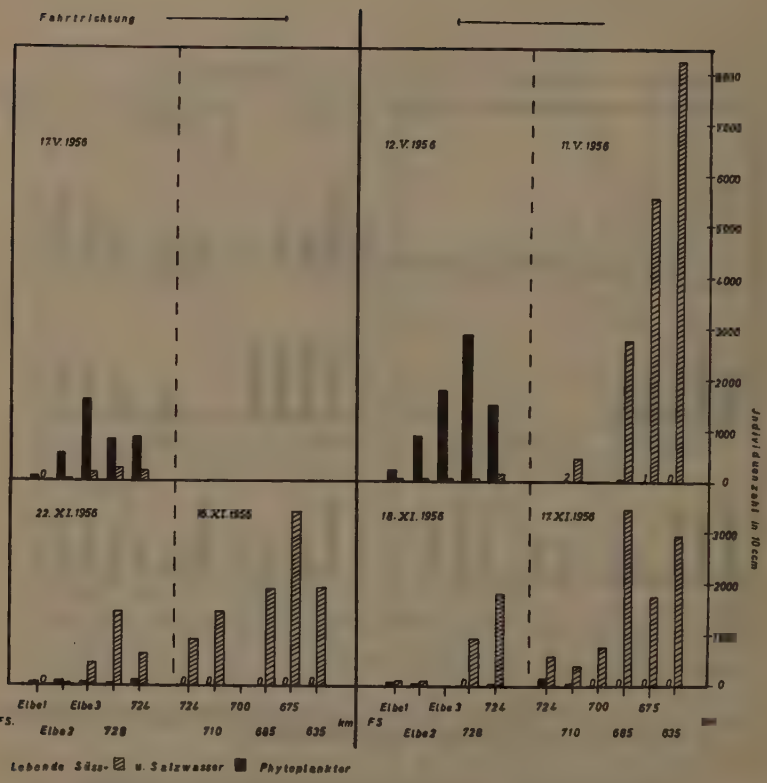

Abb. 8. Lebende Süß- und Salzwasserphytoplankter. Individuenzahl in 10 ccm Wasser.

V. Zusammenfassung

1. Im November 1955, Mai und November 1956 wurden an ausgewählten Stationen der Unter- und Außenelbe zwischen Hamburg und Feuerschiff Elbe 1 Wasser- und Phytoplanktonproben entnommen.
2. Die Oberflächenwasserproben wurden untersucht auf: Temperatur, Salzgehalt, pH, SBV, Ammonium, Nitrit, Nitrat, Phosphat, Gesamtphosphat, Trübung, Seston, organische Substanz, Eiweiß und Chlorophyll.
3. Die Phytoplanktonproben wurden auf ihren Gehalt an lebenden und toten Formen des Süß- und Seewassers untersucht.
4. Die chemischen Faktoren zeigen den gleichen charakteristischen Verlauf, wie er schon in früheren Untersuchungen festgestellt wurde.
5. Der erste Anstieg im Salzgehalt tritt im Raum von Glückstadt auf, an der oberen Grenze der polyhalinen Zone nimmt er sehr schnell zu.
6. Auf der Untersuchungsstrecke können zwei Maxima in der Phytoplanktonentwicklung festgestellt werden. Das Süßwasserphytoplankton hat sein Maximum zwischen Flußkilometer 635 und 675 (Blankenese-Glückstadt), das marine Phytoplankton zwischen Cuxhaven (km 725) und Feuerschiff Elbe 3. Die Menge des Oberwassers spielt eine wesentliche Rolle für die räumliche Verteilung der Phytoplanktongesellschaften.
7. Im Raum zwischen diesen beiden Gebieten tritt eine Mischung zwischen den Süß- und Salzwasserformen ein. Nur wenige widerstandsfähige Formen bleiben am Leben.
8. Das Minimum der Phytoplanktonentwicklung liegt in der Verarmungszone, dem Gebiet des Salzgehaltssprunges in der Gegend um km 710 (Otterndorf-Medemmündung).
9. Die Kurve des Siliziumgehalts deckt sich mit dem Prozentsatz abgestorbener Phytoplankter im Gesamtphytoplankton.
10. Es wird gezeigt, daß gewisse Beziehungen zwischen Seston, organischer Substanz, Eiweiß und Chlorophyll einerseits und dem Phytoplanktongehalt an den einzelnen Abschnitten der Unter- und Außenelbe andererseits bestehen.

Anschriften der Verfasser

Dr. Eva-Maria Bursche, Berlin-Dahlem, Unter den Eichen 71

Dr. Heinrich Kühl, Bundesforschungsanstalt für Fischerei, Institut für Küsten- und Binnenfischerei, Laboratorium Cuxhaven, Cuxhaven, Bei der Alten Liebe 1

Dr. Hans Mann, Bundesforschungsanstalt für Fischerei, Institut für Küsten- und Binnenfischerei, Hamburg 36, Neuer Wall 72

Literaturverzeichnis

BAHR, H. (1954) Der Zustand der Unterelbe. Mitteilungen des Niedersächsischen Landesgesundheitsrates. H. 9. S. 6—58.

BURSCHE, E.-M., H. KÜHL und H. MANN (1958) Hydrochemische Faktoren und Phytoplankton während einer Tide in der Elbmündung bei Cuxhaven. Gewässer und Abwässer, H. 20.

CASPERS, H. (1951) Bodengreiferuntersuchungen über die Tierwelt in der Fahrrinne der Unterelbe und im Vormündungsgebiet der Nordsee. Verh. Deutsche Zool. Ges. Wilhelmshaven. S. 404—418.

CZENSNY, R. (1934) Untersuchungsverfahren zur chemischen Wasseranalyse. Stuttgart.

GESSNER, F. (1957) Meer und Strand, Berlin.

GEYER, F. und H. MANN (1939) Limnologische und fischereibiologische Untersuchungen am ungarischen Teil des Fertö (Neusiedler See). Arbeiten d. Ungar. Biologischen Forschungsinstituts. 11. S. 64—193.

HENTSCHEL, E. (1923) Biologische Wirkung der Gezeiten im Süßwasser der Niederelbe. Verh. Int. Vereinig. Limnologie. S. 33—36.

— 1942 Analyse einer benthoplanktischen Lebensgemeinschaft (Elbemündung). Kieler Meeresforschung.

HUSTEDT, Fr. (1957) Die Diatomeenflora des Flußsystems der Weser im Gebiet der Hansestadt Bremen. Abh. Naturw. Ver. Bremen. 34, 181—440.

KALLE, K. (1956) Chemisch-hydrographische Untersuchungen in der inneren Deutschen Bucht. Deutsche Hydrographische Zeitschrift. 9, S. 55—65.

KOLBE, R. W. (1927) Zur Ökologie, Morphologie und Systematik der Brackwasserdiatomeen. Pflanzenforschung 7.

KRAEFFT, F. (1908) Über das Plankton der A-, B-, C-Stationen in der Elbmündung in den Jahren 1905—1907. Mitteilungen des Deutschen Seefischerei-Vereins. XXIV. S. 30—78.

KREY, J. (1951/52) Quantitative Bestimmung von Eiweiß im Plankton mittels der Biuretmethode. Kieler Meeresforschung 8, S. 16—29.

— (1951/52) Die Untersuchung des Eiweißgehalts in kleinen Planktonproben. Kieler Meeresforschung. 8, S. 164—172.

— (1952/53) Die Biomasse des marinen Planktons. Kieler Meeresforschung. 9, S. 43—61.

— (1953) Plankton- und Sestonuntersuchungen in der südwestlichen Nordsee auf der Fahrt der „Gauss" Februar/März 1952. Ber. Deutsch. Wiss. Komm. Meeresforsch. 13, S. 136—153.

— (1956) Die Trophie küstennaher Meeresgebiete. Kieler Meeresforschung. 12, S. 16—64.

KÜHL, H. und H. MANN (1953) Beiträge zur Hydrochemie der Unterelbe. Veröffentlichungen d. Instituts f. Meeresforschung in Bremerhaven. II, S. 236—268.

— (1954) Protokolle für die Hydrochemie der Elbe auf Grund der Untersuchungsfahrten 1949—1952. Veröff. Inst. f. Küsten- und Binnenfischerei. 7.

LUCHT, F. (1953) Hydrographische Untersuchungen der Brackwasserzone der Elbe. Deutsche Hydrographische Zeitschrift. 6, S. 18—32.

LÜNEBURG, H. (1939) Hydrochemische Untersuchungen der Elbmündung mittels Elektrokolorimeter. Arch. Dtsch. Seewarte. 59, S. 1—27.

THIEMANN, K. (1934) Das Plankton der Flußmündungen. Meteor, 12/1, S. 199—273.

VÄLIKANGAS, I. (1933) Über die Biologie der Ostsee als Brackwassergebiet. Verh. Int. Vereinig. Limnologie. 62—112.

Mykologische Notizen:

I. Mikropilze im Eis

Von W. Höhnk

Während des kalten Februars des Jahres 1955 war das Watt vor der Südwurster Küste von Eis bedeckt. Die Eisdecke reichte bei Wremen von der Grodenkante bis fast ans Fahrwasser, das ist ein etwa 1 km breiter Streifen.

Stürme und Hochwasser hatten diese Decke zerbrochen und die dicken Schollen landwärts, bis aufs Außendeichsland, getragen. Etwa mittwegs auf dem 300 m breiten Gürtel lagen sie, übereinandergeschoben und getürmt wie lange Sperriegel.

Der Vorgang wird sich wiederholt haben. Zwei bis drei solcher Gürtel zogen parallel nahe hintereinander dahin. Während der kalten mehrwöchigen Lagerzeit waren sie bis zum 3. 3. 1955, dem Exkursionstag, wenig verändert worden.

An der Oberfläche und den Bruchkanten der Schollen zeigten sich in Vertiefungen und kleinen Höhlungen erdige Substrate. Durch Zertrümmerung der Schollenkanten konnten unberührte erdige Einschlüsse bloßgelegt oder auch mit Dorn und Messer angeschnitten werden. Sie hatten verschiedene Größe, von fast 1 ccm bis zu Faustgröße.

Die Erde war schlickiger Sand und nach der Auffassung unseres Hydrographen, Dr. Lüneburg, in seinem Charakter ähnlich dem Wattboden im Schmarrener Loch. Dieser Ort liegt 4 bis 5 km nordwestlich von unserem Standort, etwas nördlich vom Wremer Tief. Das Sediment jenes Watts würde also nach der Schmelze hier auf dem Groden abgelagert worden sein.

Von den Einschlüssen im Eis nahmen wir an neun Standorten insgesamt 15 Proben, breiteten sie im Labor in Petrischalen aus, bedeckten sie mit membrangefiltertem Brackwasser von 13 ‰ Salzgehalt und beköderten sie in gewohnter Weise. Es sollte festgestellt werden, ob und in welchem Maße diese erdigen Substrate nach mehr als dreiwöchiger Lagerung im Eis noch submers lebende Pilze bargen.

Binnen 8 bis 10 Tagen konnten die folgenden 21 Formen herausgeködert werden:

a) Niedere Pilze:

Pythium salinum Höhnk, sexuell,
" *monospermum* Pringsheim, sexuell,
" *graminiculum var. stagni* Höhnk, sexuell,
" *aquatile* Höhnk, sexuell,
" *elongatum* Matthews, asexuell,

Pythium inflatum MATTHEWS, asexuell,
" *catenulatum* MATTHEWS, asexuell,
" *spec.*, mit fädigen Sporangien,
Phytophthora spec., asexuell,
Rhizophydium sphaerotheca ZOPF,
" *spec.*,
Phlyctochytrium spec., REINBOLD,
Olpidium maritimum HÖHNK,
" *pendulum* ZOPF,
Thraustochytrium spec.,
Synchytrium spec.,
Chytridium spec.,
Ectrogella spec.,
Labyrinthula spec.

b) Höhere Pilze:

Speira litorale HÖHNK,
Fungus imp., steril.

In einer Schale wurde neben diesen in beträchtlicher Menge *Leptothrix ochracea* festgestellt.

Probleme des Verderbens von Fischkonserven in Dosen

V. Das Verhalten von Botulinuskeimen in Geleeheringen

Von Victor Meyer und Ulrich Kietzmann

Durch den Prozeß über eine Botulinusvergiftung, die durch den Genuß von Heringen in Gelee verursacht sein sollte, war eine lebhafte Diskussion (Behre 1955, Harmsen 1954, 1955) ausgelöst worden. Dieser Prozeß regte die Frage an, ob in Kochmarinaden Erreger der Botulinuserkrankungen gedeihen können und unter welchen Bedingungen ihre Entwicklung gegebenenfalls unterbunden werden kann.

Kietzmann (1957) hat in diesem Zusammenhang die Geschichte der Botulinuserkrankungen und ihrer Ursachen (wiederholend) zusammengestellt und darauf hingewiesen, daß nicht nur an dem in dem genannten Prozeß behandelten Vorgang, sondern insbesondere an der Bemängelung des pH-Wertes ein lebhaftes Interesse der deutschen Fischindustrie bestand.

Über die bei der Verarbeitung von Heringen zu Kochmarinaden auftretenden Essigsäuregehalte und pH-Werte wurde bereits an anderer Stelle berichtet (V. Meyer 1953). Danach hat ein verschieden hoher Essig- und Kochsalzgehalt im Blanchierbad keinen nennenswerten Einfluß auf den Säuregrad bzw. den pH-Wert der so vorbehandelten Ware. Dementsprechend kann es sich auch nicht auswirken, falls dieses Blanchierbad mehrfach benutzt wird. Eine wesentliche Änderung in den Säureverhältnissen tritt erst nach Zugabe des sauren Geleeaufgusses auf. Es wurden in dieser Versuchsserie in gelagerter Ware im Fischfleisch 0,7—1,5 % Essigsäure und pH-Werte von 5,0—4,5 gefunden. Diese Werte stimmten gut überein mit Befunden derjenigen Waren, die verschiedenen Industriebetrieben entnommen wurden.

Der ausgesprochen saure Charakter der Kochmarinaden erscheint als wesentlicher Faktor, der eine Entwicklung von Sporenbildnern und insbesondere von Botulinuserregern verhindern könnte, da Sporenbildner, die am Eiweißabbau beteiligt sind, meist säureempfindlich sind. Es ergab sich daher als erstes die Fragestellung, ob im einzelnen die Erreger des Botulismus in einem Medium mit diesen Säureverhältnissen sich entwickeln und Toxine bilden können. Die alleinige Anwesenheit von Sporen, die als Dauerform ungünstige Bedingungen überstehen können, besagt in diesem Zusammenhange nichts (Aschehoug 1953). Vergleicht man die Angaben aus der Literatur über die unteren Grenzen des pH-Wertes, bei denen die Erreger des Botulismus noch oder eben nicht mehr wachsen, so kommt man bei einigen Autoren zu relativ übereinstimmenden Angaben. Dozier (1924) hat in Kalbfleischwasser, das mit HCl eingestellt wurde, in vitro den unteren Grenzwert mit pH 5,0 ermittelt, Ducret (1929) mit pH 5,8 in

Organbouillon mit Meerschweinchenleber. Nach DACK (1949) ist das Wachstum bei pH 5,4 oder geringer ungewiß. TOWNSEND, YEE und MERCER (1954) fanden Grenzwerte von pH 4,8 bis 5,5 in Abhängigkeit von der Art des Nahrungsmittels bzw. des Kulturmediums sowie vom Typ des eingeimpften Stammes. Die Inkubationszeiten waren in diesen Bereichen erheblich verlängert. Die Menge der Sporeneinsaat war bemerkenswert hoch (etwa 10^6 pro ml). TORRY und KAHN (1923) konnten Botulinusorganismen durch Einsatz von *B. acidophilum* unterbinden. Die dabei gebildete Milchsäure senkte den pH-Wert auf 5,2—5,6.

Dagegen gibt K. F. MEYER (1928) an, daß „verschiedene Botulinusstämme in einem Nährboden mit pH 4,8 noch gute Gifte bilden können" und daß „die den Sterilisierungsprozeß überlebenden Sporen in Vegetabilien mit einem pH von mehr als 4,5 auswachsen und Gifte erzeugen". Bei Bohnen- und Spargelkonserven konnten sie allerdings nur auswachsen, wenn der pH-Wert der Produktion über 5,0 lag. Schließlich gibt er für Traubenzuckerpeptonlösung die Hemmungswerte für verschiedene Säuren an, die bei den einzelnen Säuren zwischen 3,65 und 4,85 liegen.

Da die Literatur uns allein keine definitive Antwort auf unsere Frage geben konnte, sahen wir es als unsere Aufgabe an, die unteren Grenzwerte für eine Entwicklungsmöglichkeit der Botulinusorganismen hinsichtlich Säure- und Wasserstoffionenkonzentration erstens in vitro in geeigneten Nährlösungen und zweitens im praktischen Versuch direkt im Lebensmittel „Hering in Gelee" zu prüfen.

Als Testorganismen lagen verschiedene Botulinuserreger vor, und zwar:

1. *Clostridium botulinum B* (INSTITUT PASTEUR, Paris).
2. *Clostridium parabotulinum* (Prof. Dr. FORTNER, Berlin).
3. *Clostridium botolinum* Stamm U 21 (ROBERT-KOCH-INSTITUT, Berlin).
4. *Clostridium botulinum E*, Stamm Dr. DOLMAN } (Prof. Dr. K. F. MEYER,
5. *Clostridium botulinum E*, Russischer Stamm } San Francisco)

Die meisten Versuche wurden mit den Stämmen 1—4 durchgeführt. Die Fortzüchtung der Stämme erfolgte im Hirnbreinährboden nach ROSENOW im Vakuum.

Die Versuche in vitro wurden anfangs in Reagenzgläsern vorgenommen, die in Einmachegläsern unter Vakuum gehalten wurden. Da die laufende Beobachtung erschwert war, wenn bei größeren Reihenversuchen aus Platzmangel eine größere Anzahl von Röhrchen in ein und dasselbe Einmacheglas gestellt werden mußte, verwendeten wir später U-förmig gebogene Gärröhrchen mit Zusatz von Tierkohle, deren offener Schenkel mit Paraffinum liquidum nach der Füllung und Beimpfung verschlossen wurde (V. MEYER 1956). Die Nährlösung wurde noch warm sofort nach dem Sterilisieren in die Röhrchen gefüllt, um den Zutritt von Sauerstoff zu vermeiden. Das Einfüllen geschah durch vorsichtiges Neigen der Gärröhrchen. Unter diesen Bedingungen erhielten wir ausreichend anaerobe Verhältnisse. Da die Tierkohle bisweilen in der Asche alkalische Bestandteile enthält, die den pH-Wert zum Neutralen hin verschieben können, verwendeten wir bei Reihen mit geringen pH-Intervallen Asbestpulver, wie es für Gooch-Tiegel benutzt wird. Die Beimpfung größerer Reihen erfolgte mit der Pipette mit Auf-

schwemmungen geeigneter Verdünnung. Über die genaue Menge der eingeimpften Keime können keine Angaben gemacht werden, da die Keimzählungen selbst mit der Überschichtungsplatte nach LEISTNER (1955) unbefriedigend waren; sie wird auf 10^3 pro ml Nährlösung geschätzt. Als Nährlösung diente Leberbouillon mit 1—2 % Glucose. Die Einstellung der pH-Werte erfolgte mit Essigsäure unter Verwendung von Glaselektroden (Radiometer PHM 22).

Das Ergebnis der Versuchsreihen mit Abstufungen von 0,25 pH-Einheiten in den Nährlösungen war, daß deutliches Wachstum nur bis pH 5,75, schwächeres Wachstum auch bei pH 5,5, selten bei pH 5,25 beobachtet wurde. In eingehenderen Versuchen mit Abstufungen von 0,1 pH-Einheiten und verschiedenen Nährlösungen mit verschiedenen, als Puffer wirkenden Substanzen, zeigte sich ein ähnliches Ergebnis. In den Fällen, wo bei pH-Werten um 5,3 noch Wachstum und Gasbildung beobachtet wurden, traten diese dann jedoch erst nach späterer Zeit auf, und zwar nach mehr als sieben Tagen. Nur bei Stamm Dr. DOLMAN setzte die Entwicklung auch bei pH 5,3 schon nach vier Tagen ein. Über diese Versuche wird in einer anderen Arbeit noch berichtet werden.

Für die praktischen Versuche mit „Hering in Gelee" wurden statt der in der Praxis üblichen Konservendosen Kunststoffbehältnisse verwendet. Sie haben den Vorteil der Durchsichtigkeit, so daß ein wesentlicher Teil der Veränderungen wie Gasbildung, Verflüssigung der Gelatine, Zersetzung des Inhalts bereits von außen beobachtet werden kann. Darüber hinaus läßt sich der einwandfrei schließende Deckel zwar mit einiger Mühe, aber ohne Beschädigung abnehmen und wieder daraufsetzen, so daß die Ware nach einer Zwischenuntersuchung weiter beobachtet werden kann, und schließlich, ein sehr wesentlicher Vorteil, lassen sich die Behältnisse nach beendetem Versuch mitsamt Inhalt sehr gut durch Verbrennen vernichten.

Die rohen Heringe wurden in passende Stücke geschnitten und, da nach den oben angeführten Untersuchungen der Essiggehalt im Blanchierbad keinen nennenswerten Einfluß hat, in einem Bad bei 85—90° C, das lediglich 2 % Kochsalz enthielt, zwölf Minuten lang vorbehandelt. Nach dem Abkühlen wurde die Mittelgräte nach Aufklappen der Fischteile entfernt. In die Dosen wurde in der Zwischenzeit zunächst eine dünne Schicht Geleeaufguß gefüllt und zur Erstarrung gebracht, damit die Heringsteile nicht unmittelbar auf dem Boden der Dose liegen und später allseitig von säurehaltigem Gelee umgeben sind. Alsdann wurden die genau abgewogenen Heringsstücke in die Dose gepackt. Die Beimpfung erfolgte mittels Platinöse aus gut entwickelter Hirnbreikultur, und zwar in das Fleisch zwischen die Fischhälften, so daß die Keime später durch das sie umgebende Fleisch möglichst lange vor dem allmählich eindringenden Essig geschützt sein sollten (Einsaat etwa 10^4 Keime). Damit wollten wir möglichst harte Versuchsbedingungen schaffen. Schließlich wurden die Dosen mit dem Geleeaufguß randvoll gefüllt und mit einem Deckel verschlossen. Das Verhältnis Fisch : Gelee betrug in handelsüblicher Weise 1 : 1. Der Geleeaufguß enthielt 5 % Gelatine, 2,5 % Kochsalz sowie Essigsäure in wechselnder Menge. Vor der Bebrütung wurden die Dosen zur guten Erstarrung des Gelees eine Nacht im Kühlschrank bei 2—4° C aufbewahrt.

Nach erfolgter Bebrütung, die bei verschiedenen Temperaturen und unterschiedlicher Zeit vorgenommen wurde, wurden für den Mäusetest Proben von 2—5 ml aus der Nährlösung bzw. aus dem Geleehering (gegebenenfalls nach vorsichtiger Erwärmung auf 45° C) entnommen und durch ein- oder mehrmaliges Zentrifugieren bei 2500 Touren während einer Stunde von Trübungen und Bodensatz weitestgehend befreit. Eine Filtration, etwa durch Membranfilter, ist nicht empfehlenswert,

da die Toxine offensichtlich durch das Filtermaterial zurückgehalten werden (vgl. PEDERSEN 1953).

Verschiedene Versuche, von denen die ungünstigsten Resultate in Tab. 1 zusammengefaßt sind (ein ausführlicher Bericht über den klinischen Befund folgt am Schluß der Arbeit), ergaben, daß die Grenzwerte für die Toxinbildung bei *Cl. botulinum B* bei einer ursprünglichen Essigsäurekonzentration im Geleeaufguß von 0,9 %, bei *Cl. parabotulinum* von 1,3 %, beim Stamm U 21 von 1,5 % und beim Stamm DOLMAN sogar von 1,7 % lagen. (Eigenartigerweise wurden bei Wiederholung des Mäusetestes nach drei Tagen die Grenzwerte aus denselben Proben meist bei niedrigeren Konzentrationen festgestellt.) Als jeweils höchste pH-Werte wurden im Fisch nach fünf Tagen in den dazugehörenden unbeimpften Kontrollen mit gleicher Essigsäurekonzentration gemessen: 5,7; 5,5; 5,0; 5,1. Nach einem Tag werden die pH-Werte noch höher gelegen haben, da ja die Diffusion der Essigsäure von dem Geleeaufguß ins Innere des Fleisches relativ langsam vor sich geht. Umgekehrt konnten wir entsprechend nach vierzehntägiger Aufbewahrung niedrigere pH-Werte messen (in der gleichen Reihenfolge 5,6; 5,0; 4,9; 4,8). Die in das Fischinnere eingeimpften Sporen hatten bei optimaler Temperatur (26° C) im Anfang noch gute Auskeimmöglichkeiten. Im günstigen Milieu kann sich die Entwicklung von Botulinuskeimen bekanntlich bereits nach 24 Stunden in deutlich sichtbaren Veränderungen des Substrates auswirken. In unserem Falle sind die Organismen möglicherweise schon in bester Entwicklung gewesen, bevor die konservierende Wirkung der Essigsäure zu ihnen vordringen bzw. sich ein ungünstiger pH-Wert einstellen konnte. Beginnt aber erst der Stoffwechsel der Botulinusorganismen, so treten insbesondere bei kohlenhydratfreiem Medium, wie es bei Fischmarinaden normalerweise der Fall ist, Abbauprodukte auf, die den pH-Wert nach oben verschieben; u. a. liefert die Aminosäurendecarboxylierung derartige Stoffe. Dadurch werden die Entwicklungsmöglichkeiten für die Mikroorganismen wieder günstiger, und es kommt dann zu dem normalen Bild des Abbaues, wie es sonst nur bei höherem oder gar optimalem pH-Wert gefunden wird.

In weiteren Versuchen haben wir daher einen Teil der Proben drei bzw. sieben Tage vor der eigentlichen Bebrütung im Kühlschrank bei 2° C aufbewahrt, um nämlich hier der Essigsäure Gelegenheit zu geben, möglichst bis in den Kern vorzudringen, bevor die Organismen bei Bebrütung zur Entwicklung kommen konnten. Außerdem wurde die eine Hälfte bei 26° C und die andere Hälfte der Proben bei Zimmertemperatur bebrütet.

An den Ergebnissen dieser Versuchsserie (Tab. 2) fällt zunächst auf, daß im Gegensatz zu dem vorigen Versuch bei den Proben mit 1,7 % Essigsäure im Ursprungsgelee keine sinnlich wahrnehmbaren Veränderungen und keine Toxinbildung festgestellt wurden. Das mag daran liegen, daß durch größere Einwaage (140 g statt 90 g Gesamtinhalt) von vornherein eine bessere, d. h. gleichmäßigere Diffusion möglich wurde. Die pH-Werte, die

Hering in Gelee

in Kunststoffdosen 45 g Fisch + 45 g Gelee, beimpft mit Botulinuskeimen, bebrütet bei 26° C

		Essigsäure in Geleeaufguß						
		0,5 %	0,7 %	0,9 %	1,1 %	1,3 %	1,5 %	1,7 %
Botulinus	Gas	7	7	11	—	—	—	—
	Verflüssig.	5	7	7	—	—	—	—
	n. 11 Tg.	xxx xx x	xxx xxx xx	xxx xxx /	— — —			
Mäusetest	Extr. Nr.	465	466	467	468			
	n. 14 Tg.			/ / /	— — —	— — —		
	Extr. Nr.			485	486	487		
Parabotul.	Gas	5	7	11	—	7	—	—
	Verflüssig.	5	7	7	—	11	—	—
	n. 11 Tg.			x x x	/ / /	xxx xxx xxx	— — —	
Mäusetest	Extr. Nr.			469	470	471	472	
	n. 14 Tg.				— — —	— — —	— — —	— — —
	Extr. Nr.				488	489	490	491
Dolman	Gas	4	4	4	4	4	5	11
	Verflüssig.	4	6	6	11	6	11	11
	n. 11 Tg.				x x x	x x x	x x x	x x x
Mäusetest	Extr. Nr.				477	478	479	480
	n. 14 Tg.					xxx xxx xxx	xxx xxx xxx	xxx xxx x
	Extr. Nr.					495	496	497
U 21	Gas	5	4	4	11	5	—	—
	Verflüssig.	4	11	11	?	11	—	—
	n. 11 Tg.			xxx xxx xxx	xxx xxx xxx	xxx xxx xxx	x x x	
Mäusetest	Extr. Nr.			473	474	475	476	
	n. 14 Tg.					x x x	xxx xxx xxx	/ / /
	Extr. Nr.					492	493	494
Unbeimpfte Kontrolle	Gas	11	—	11	—	—	—	—
	Verflüssig.	7	—	11	—	—	—	—
	n. 11 Tg.	— — —	— — —	— — —	— — —			
Mäusetest	Extr. Nr.	481	482	483	484			
	n. 14 Tg.	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —		
	Extr. Nr.	498	499	500	501	502		

Eintritt der Gasbildung und Geleeverflüssigung nach Tagen.

Mäusetest: xxx letal nach 24 Std.; xx letal nach 48 Std.; x letal nach 3 oder mehr Tagen; / nach kürzerer oder längerer Erkrankung gesundeten die Tiere; — ohne Befund; mit jedem Extrakt wurden 3 Mäuse beimpft.

Hering in Gelee

in Kunststoffdosen 70 g Fisch + 70 g Gelee beimpft mit Botulinuskeimen, mit Zwischenaufbewahrung bei 2° C von 1, 3 bzw. 7 Tagen

		Bebrütung bei 26°												Bebrütung bei Z. T.											
Essigsäure i. Geleeaufguß		0,5 %			0,9 %			1,1 %			1,7 %			0,5 %			0,9 %			1,1 %			1,7 %		
Tage bei 2° C		1	3	7	1	3	7	1	3	7	1	3	7	1	3	7	1	3	7	1	3	7	1	3	7
Botulinus	Gas	4	7	11	5	9	22	7	—	—	—	—	—	8	22	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Verflüssig.	5	7	12	9	9	22	22	30	—	—	—	—	8	22	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	n. Tagen				16	22	22	16	22	22	16	64		30	64	98	30	64	98						
Mäusetest	letal				xxx	xxx	---	---	---	---	---	---		(xxx)	xx(x)	xxx	---	---	---						
	n. Tagen						30	22	30	30				37			37								
	letal						xxx	xxx	---	---				xx(x)			---								
Parabotul.	Gas	5	?	11	22	7	22	11	—	—	—	—	—	9	22	30	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Verflüssig.	5	6	11	7	9	22	16	—	—	—	—	—	12	9	30	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	n. Tagen	37	64	37	16	22	30	16	22	64	16			30	64	112	30	64	112						
Mäusetest	letal	(xxx)	---	---	---	---	(xxx)	---	xxx	---	---			---	(xx)-	---	---	---	---						
	n. Tagen				22	37	37	22	30					37			37								
	letal				---	---	xxx	---	---					---			---								
Dolman	Gas	4	5	9	4	5	—	4	6	22	—	—	—	9	12	22	—	—	—	?	22	—	—	—	—
	Verflüssig.	5	9	11	5	9	—	5	16	22	—	—	—	9	22	30	7	—	—	—	22	—	—	—	—
	n. Tagen			98		16	22	16	16	22	16	16	22	37	64	112	37	64	112	37	64	112	37	64	
Mäusetest	letal			---		xxx	---	xxx	---	xxx	---	---	---	xxx	xxx	---	---	---	xx-	---	xxx	---	---	---	
	n. Tagen								22			64						112			112			112	
	letal								xxx			---						---			x(x)-			---	
U 21	Gas	4	5	11	4	5	12	4	11	—	—	—	—	6	12	22	6	37	—	—	—	—	—	—	—
	Verflüssig.	5	6	12	5	11	22	5	17	—	—	—	—	12	22	22	?	37	—	—	—	—	—	—	—
	n. Tagen					16	22	16	16	22	16	16	22	30	64	112	30	64	112	37	64	112		98	
Mäusetest	letal					xxx	---	xxx	xxx	---	---	---	---	xxx	xxx	xxx	(xxx)	xxx	xxx	---	xxx	---		---	
	n. Tagen						30		98	30								98			98				
	letal						xxx		xxx	---								xxx			xxx				
Unbeimpfte Kontrolle	Gas	22	—	—	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Verflüssig.	22	30	22	22	—	—	—	—	—	—	—	—	63	37	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	n. Tagen	37	22	30	16	22	30	16						64	37			37	112						
Mäusetest	letal	---	xxx	---	---	---	---	---						---	---			---	---						
	n. Tagen	64	30	64	37																				
	letal	---	xxx	---	---																				
pH-Werte nach 5 bzw. 11 Tagen		5,4	5,8	5,9	5,5	5,5	5,3	5,2	5,2	5,3	5,2	5,0	4,8	5,6	5,7	5,7	5,2	5,3	5,2	5,3	5,3	5,2	5,0	5,0	4,8
		-6,1	-6,3	-6,1	-5,7	-5,9			-5,3	-5,5		-5,1		-5,8	-5,9	-5,8	-5,5	-5,4						-5,1	-4,9

x letal innerhalb 48 Std.; (x) letal nach längerer Zeit - ohne Befund. Jedes Zeichen entspricht einem Versuchstier. Gas und Verflüssigung nach Tagen.

in den unbeimpften Kontrollen gemessen wurden (nach fünf Tagen bzw. in den Proben mit siebentägiger Zwischenaufbewahrung nach elf Tagen), zeigten aber auch hier noch Schwankungen, wobei natürlich noch nicht einmal gesagt werden kann, ob wirklich die Extremwerte erfaßt wurden.

Der Grenzwert für die Toxinbildung lag bei den bei 26° C aufbewahrten Proben bei 1,1 % Essigsäure. Während bei ein- und dreitägiger Zwischenaufbewahrung bei 2° C von vier Proben jeweilig drei Proben im Mäusetest positiv waren, war es bei siebentägiger Zwischenaufbewahrung von vier Proben nur noch eine (Stamm Dr. Dolman). Das schien also unsere Vermutungen zu bestätigen. Zur Erhärtung bedurfte es jedoch genauerer Studien des Diffusionsvorganges.

Da bei dem Umfang des Materials die chemischen Daten nicht gleichzeitig in befriedigendem Maße ermittelt werden konnten, wurde die Diffusion im Anschluß an diese Serie in ausführlicher Weise untersucht. Es wurden so viele Proben in Kunststoffdosen mit 140 g Gesamtinhalt mit den verschiedenen Essigsäurekonzentrationen in Gelee hergestellt, daß nach zwei-, drei-, vier-, sieben-, vierzehn- und zweiundzwanzigtägiger Aufbewahrung bei 2° C, Zimmertemperatur und 26° C Bestimmungen hinsichtlich des pH-Wertes, der Essigsäurekonzentration sowohl im Fisch wie im Gelee als auch in beiden zusammen durchgeführt werden konnten. Die Essigkonzentrationen im Geleeaufguß waren 0,5; 0,9; 1,1; 1,4 und 1,7 %. Außerdem untersuchten wir eine gleiche Versuchsserie mit Proben aus der Praxis, die mit einem Geleeaufguß von 1,95 % Essigsäure hergestellt waren.

Der pH-Wert wurde mittels Nadel-Glaselektrode bestimmt an drei Stellen im Gelee in verschiedenem Abstand vom Fisch, an drei verschiedenen Stellen im Fischfleisch (Bauchlappen, Seitenlinie, Rückenpartie bzw. in Fleischstücken verschiedener Dicke) sowie jeweils in einer Mischung des Gesamtgelees bzw. des Gesamtfleisches, die zu einer Paste im Mörser verrieben wurde zur Erzielung von Durchschnittswerten. Diese Pasten wurden gleichzeitig zur Bestimmung des Essigsäuregehaltes benutzt.

Der Übersicht halber und aus Platzmangel wurden nur die wichtigsten Ergebnisse herausgezogen und in Tabelle 3 zusammengefaßt. Dabei wurde eine Gruppierung dieser Werte vorgenommen nach der Überlegung, daß nach den Ergebnissen in vitro bei pH 5,8 und darüber eine sehr gute Entwicklung, von 5,8—5,5 eine mäßige Entwicklung, von 5,5—5,3 eine spärliche Entwicklung und darunter keine Entwicklung von Botulinuskeimen mehr zu erwarten ist. Die Zahlen in den Spalten geben an, wie viele Werte von den drei pH-Bestimmungen im Fleisch in der betreffenden Gruppe angetroffen wurden. Diese chemischen Untersuchungen scheinen uns sehr wichtig zu sein, da sie uns Aufschluß darüber geben können, warum gelegentlich einmal außer der Reihe noch toxische Proben aufgefunden wurden. Es gibt nämlich, insbesondere bei den niedrigeren Konzentrationen, hin und wieder Stückchen, in die der Essig des Gelees nicht so schnell eingedrungen ist, wie es dem Durchschnitt der Proben entsprechen würde. Das macht sich bei den kleinen Proben des Laborversuches stärker bemerkbar als in der regulären Ware der Praxis, wo namentlich bei größeren Packungen eine wesentlich bessere und schnellere Diffusion des Essigs gewährleistet ist, obwohl das Verhältnis von Fisch : Gelee gleich ist. Diese

Hering in Gelee

Diffusion der Essigsäure pH-Werte im Fleisch

		2° C				Z. T.				25° C			
Essigsäure Geleeaufguß	nach Tagen	über 5,8	5,8—5,5	5,5—5,3	unter 5,3	über 5,8	5,8—5,5	5,5—5,3	unter 5,3	über 5,8	5,8—5,5	5,5—5,3	unter 5,3
0,5 %	2	3	—	—	—	2	—	1	—	1	2	—	—
	3	1	—	—	2	—	2	—	1	—	—	2	1
	4	1	2	—	—	—	1	—	2	2	1	—	—
	7	—	1	2	—	—	1	2	—	—	3	—	—
	14	1	2	—	—	—	1	2	—	—	2	1	—
	22	—	2	1	—	—	2	1	—	1	2	—	—
Durchschnittsprobe	22	pH 5,41; Essigsäure 0,24 %				pH 5,55; Essigsäure 0,21 %				pH 5,69; Essigsäure 0,21 %			
0,9 %	2	1	1	1	—	—	2	—	1	1	—	1	1
	3	—	1	1	1	1	—	—	2	—	—	—	3
	4	1	1	—	1	—	1	—	2	—	1	—	2
	7	—	—	1	2	—	—	—	3	—	1	—	2
	14	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
	22	—	—	2	1	—	—	—	3	—	—	2	1
Durchschnittsprobe	22	pH 5,12; Essigsäure 0,33 %				pH 5,13; Essigsäure 0,34 %				pH 5,22; Essigsäure 0,36 %			
1,1 %	2	2	—	—	1	—	2	—	1	2	—	—	1
	3	1	1	—	1	—	—	—	3	—	—	—	3
	4	—	1	—	2	—	—	2	1	—	—	1	2
	7	—	—	1	2	—	—	—	3	—	—	—	3
	14	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
	22	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
Durchschnittsprobe	22	pH 4,80; Essigsäure 0,42 %				pH 4,93; Essigsäure 0,51 %				pH 4,87; Essigsäure 0,38 %			

Hering in Gelee

Diffusion der Essigsäure pH-Werte im Fleisch

Essigsäure Geleeaufguß	nach Tagen	2° C über 5,8	2° C 5,8—5,5	2° C 5,5—5,3	2° C unter 5,3	Z. T. über 5,8	Z. T. 5,8—5,5	Z. T. 5,5—5,3	Z. T. unter 5,3	25° C über 5,8	25° C 5,8—5,5	25° C 5,5—5,3	25° C unter 5,3
1,4 %	2	—	—	—	3	—	1	1	1	—	1	—	2
	3	—	—	2	1	—	1	—	2	—	—	—	3
	4	1	—	1	1	—	—	—	3	—	—	—	3
	7	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
	14	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
	22	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
Durchschnittsprobe	22	pH 4,71; Essigsäure 0,54 %				pH 4,72; Essigsäure 0,60 %				pH 4,78; Essigsäure 0,66 %			
1,7 %	2	—	—	1	2	1	—	—	2	—	—	1	2
	3	—	—	1	2	—	—	1	2	—	—	—	3
	4	—	—	1	2	—	—	—	3	—	—	—	3
	7	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
	14	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
	22	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	3
Durchschnittsprobe	22	pH 4,71; Essigsäure 0,72 %				pH 4,68; Essigsäure 0,75 %				pH 4,74; Essigsäure 0,69 %			
1,95 % (Industrieware)	1	—	—	—	3	—	—	—	3				
	2	—	—	—	3	—	—	—	3				
	3	—	—	—	3	—	—	—	3				
	4	—	—	—	3	—	—	—	3				
	6	—	—	—	3	—	—	—	3				
	15	—	—	—	3	—	—	—	3				
	28	—	—	—	3	—	—	—	3				
Durchschnittsprobe	28	pH 4,62; Essigsäure 0,87 %				pH 4,59; Essigsäure 1,01 %							

Feststellung ist bedeutungsvoll, da sie zeigt, daß die Entwicklungsmöglichkeiten für die Botulinuskeime in der Praxis ungünstiger sind als hier in unseren Versuchen.

Aus der Tabelle 3 ergibt sich zwar, daß ab 0,9 % in der Durchschnittsprobe der End-pH im Fleisch bereits nur noch 5,1—5,2 beträgt, also unterhalb des Entwicklungsminimums der Botulinusarten liegt. Da aber selbst nach sieben Tagen an einzelnen Stellen im Fischfleisch noch Werte über 5,3 gefunden wurden, würde diese Konzentration niemals für eine einwandfreie Geleeware ausreichend sein. Nicht viel besser sah es bei 1,1 % Essigsäure aus. Mit steigendem Essigsäuregehalt werden die Verhältnisse besser (die Diffusionsgeschwindigkeit der Säure ist proportional ihrer Konzentration), aber erst ab 1,95 % Essigsäure liegen die pH-Werte schon nach einem Tage unter 5,3 (5,18—4,3). Bei den Versuchen in vitro haben wir gesehen, daß die Entwicklung der Botulinuskeime mit fallendem pH-Wert verzögert und bei pH 5,3, wenn überhaupt, erst nach vier bis acht Tagen feststellbar ist gegenüber ein bis zwei Tagen bei optimalem pH über 6,0. Darin liegt noch ein gewisser Sicherheitsfaktor.

Die Industrie hat sich aus Erfahrung schon lange darauf eingestellt, indem sie selbst bei der sogenannten milden Ware mindestens einen Essigsäuregehalt von 1,9—2,0 % für den Geleeaufguß wählt. Wir haben bei Untersuchungen in der hiesigen Industrie demzufolge auch nur bei einem einzigen, und zwar sehr kleinen Betrieb darunterliegende Werte gefunden. Die meisten Betriebe wollen sichergehen und verwenden Aufgüsse, deren Essigsäuregehalt über 2,0 % liegt.

Die Tabelle 3 zeigt weiter, wie sich die Essigsäurekonzentration im Fischfleisch nach Beendigung des Versuches eingestellt hat (Durchschnittsprobe nach 22 Tagen). Danach müßten, wenn wir 1,7 % Essigsäure im Ursprungsgelee als Grenzwert für eine einwandfreie Ware ansehen, in der Fertigware im Fischfleisch mindestens 0,7 % Essigsäure gefunden werden. Die Werte der Praxis, wie bereits anfangs erwähnt, schwanken zwischen 0,7 und 1,5 % Essigsäure; sie sind in gewissem Umfange abhängig vom Wassergehalt der Rohware. Da aber im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den Marinaden, bei denen die Bombagen durch säuretolerante Bakterien verursacht werden, für die Hemmung der Botulinuskeime die Wasserstoffionenkonzentration ausschlaggebend ist und nicht die Säurekonzentration, wurde in dieser Arbeit dem pH-Wert die größere Bedeutung zugemessen. Wir hoffen, in einer späteren Arbeit näher auf die Gründe hierfür eingehen zu können.

Die in der oben beschriebenen Weise aus den bebrüteten Geleeheringen gewonnenen Extrakte wurden im Staatlichen Verterinäruntersuchungsamt Bremerhaven derart behandelt, daß im Blindversuch ohne Kenntnis, von welchem Stamm und bei welchem pH-Wert gewonnen, jeweils Gruppen von drei weißen Mäusen subcutan geimpft wurden. Jedes einzelne Tier erhielt 0,25 ml des betreffenden Extraktes appliciert. Die einzelnen Versuchstiere wogen mindestens 20 g und wurden vor dem Versuch mindestens acht Tage auf ihren Gesundheitszustand beobachtet.

Die Ergebnisse der Versuchsserie der Tabelle 1 seien hinsichtlich des klinischen Verhaltens der geimpften erkrankten und verendeten Versuchstiere ausführlicher beschrieben, da sie besonders kennzeichnend für die ganze Arbeit sind.

A. *Clostridium botolinum B.*

1. 0,5 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 465.
   Es verendete eine Maus innerhalb von 24 Std., die zweite innerhalb von 48 Std. Beide Mäuse zeigten Lähmungserscheinungen im Bereich der Gliedmaßen, Wespentaille und Atemnot. Eine schwerkranke Maus, die völlig gelähmt in Streckstellung lag, wurde nach 72 Std. getötet.
2. 0,7 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 466.
   Zwei Mäuse verendeten innerhalb von 24 Std., beide waren zusammengekrümmt und lichtscheu. Sie zeigten starkes Zittern. Eine Maus verendete nach 48 Std. Bei letzterer Maus traten Lähmungserscheinungen an der linken Vorderpfote auf. Das Haarkleid war struppig, die Atmung angestrengt, der Leib eingezogen.
3. 0,9 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 467.
   Zwei Mäuse verendeten innerhalb 24 Std., eine Maus krank, überlebte aber. Letztere wurde nach völliger Wiederherstellung am dritten Tage getötet.
   0,9 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 485.
   Nach leicht gestörtem Allgemeinbefinden trat im Verlauf des zweiten Tages bei allen Mäusen offensichtlich Gesundung ein.
4. 1,1 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 468.
   Sämtliche Mäuse ohne Befund.
   1,1 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 486.
   Sämtliche Mäuse ohne Befund.

B. *Clostridium parabotulinum*

1. 0,9 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 469.
   Sämtliche Mäuse verendeten nach 36 Std., sie zeigten im Verlauf schwer gestörten Allgemeinbefindens Atemnot, Robbenstellung und aufgeschürzten Leib.
2. 1,1 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 470.
   Die drei geimpften Mäuse wiesen bis zum sechsten Tage p. i. erhebliche Krankheitsmerkmale auf. Sie waren lichtscheu, nahmen nur wenig Futter auf und hatten ein struppiges, glanzloses Haarkleid. Die Atmung war beschleunigt. Am siebenten Tage erholten sich die Tiere wieder und wurden nach Ablauf dieser Frist offensichtlich gesund. Da sich im Verlauf weiterer acht Tage keine Krankheitserscheinungen zeigten, wurden die Tiere getötet.
   1,1 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 488.
   Sämtliche Tiere ohne Befund.
3. 1,3 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 471.
   Sämtliche drei Mäuse verendeten nach 24 Std., ohne noch Nahrung aufgenommen zu haben. Sie zeigten Lähmungserscheinungen.
   1,3 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 489.
   Sämtliche Tiere ohne Befund.
4. 1,5 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 472.
   Sämtliche Tiere ohne Befund.
   1,5 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 490.
   Sämtliche Tiere ohne Befund.
5. 1,7 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 491.
   Sämtliche Tiere ohne Befund.

C. *Clostridium botolinum E* Stamm Dr. Dolman

1. 1,1 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 477.
   Nach anfänglich unverändertem Verhalten während des ersten Tages p. i. verschlechterte sich der Gesundheitszustand der Mäuse zusehends. Am dritten Tage waren alle drei Tiere schwer krank, fraßen nicht mehr, hatten ein struppiges Haarkleid und verendeten unter dem Bild der Atemnot. Lähmung und Streckstellung am fünften bzw. sechsten Tage p. i.
2. 1,3 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 478.
   Auch hierbei zeigte sich eine zunehmende Verschlechterung des Gesundheitszustandes von anfänglicher Munterkeit bis zur völligen Lähmung innerhalb von vier Tagen. Sämtliche drei Mäuse verendeten am sechsten Tage unter gleichen Krankheitserscheinungen wie bei Extrakt 477.
   1,3 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 495.
   Die drei geimpften Mäuse zeigten bereits einige Stunden nach der Injektion ein gestörtes Allgemeinbefinden. Innerhalb 24 Std. steigerte sich das Krankheitsbild bis zur Lähmung aller Gliedmaßen, Atemnot bei eingezogenem Leib und Tod in Streckstellung bereits nach 24 Std.
3. 1,5 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 479.
   Die geimpften Mäuse verendeten am dritten Tage p. i. Vor dem Exitus zeigten sich Atemnot, Lähmungserscheinungen in den Gliedmaßen, Unvermögen sich zu bewegen, Nahrungsverweigerung und Lichtscheue.
   1,5 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 496.
   Der Tod der geimpften Mäuse trat unter schweren Krankheitserscheinungen bereits innerhalb von 24 Std. ein. Die Mäuse waren zusammengekrümmt und stellten bereits wenige Stunden p. i. die Nahrungsaufnahme ein.
4. 1,7 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 480.
   Zwei der geimpften Mäuse verendeten nach 72 Std., eine Maus nach 84 Std. Alle drei Mäuse zeigten typische Krankheitsbilder mit Atemnot, Robbenstellung und Bewegungsunfähigkeit.
   1,7 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 497.
   Zwei Mäuse kamen bereits nach 24 Std. ad exitum. Eine Maus verendete nach 48 Std. Das Krankheitsbild war wesentlich ausgeprägter und schneller zum Tode führend als bei Extrakt 480. Bereits kurz nach der Impfung stellten sich Zittern, Atemnot, Zusammenkrümmen und beginnende Lähmung ein.

D. *Clostridium botulinum* Stamm U 21

1. 0,9 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 473.
   Innerhalb von 24 Stunden verendeten die drei geimpften Mäuse unter Atemnot, Zittern und Lähmungserscheinungen.
2. 1,1 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 474.
   Drei Mäuse verendeten innerhalb 24 Std. Vor dem Exitus lagen sie bewegungsunfähig in Streckstellung.
3. 1,3 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 475.
   Sämtliche Versuchstiere verendeten innerhalb von 24 Std. Klassische Krankheitsbilder wie Zittern, Atemnot und Lähmungserscheinungen wurden beobachtet.
   1,3 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 492.
   Im Gegensatz zu dem Extrakt 475 verendeten die Versuchstiere erst am dritten Tage. Innerhalb der drei Tage waren die Mäuse anfänglich noch munter und nahmen Nahrung auf. In Abständen wurden die Mäuse unlustig, sonderten sich ab und wühlten sich im Verlauf des zweiten Tages in die Spreu ein. Am dritten Tage zeigten alle drei Mäuse Atemnot, Streckstellung und Teilnahmslosigkeit und verendeten in kurzen Abständen am dritten Tage.

4. 1,5 % Essigsäure, 11 Tage alt, Extrakt 476.
Auch hier trat der Tod aller drei Mäuse erst am dritten Tage ein. Nach anfänglicher Frische am ersten Tage wurde das Krankheitsbild zusehends schlechter. Am zweiten Tage wurde nur noch mühsam und vereinzelt Nahrung aufgenommen. Am dritten Tage verendeten die Tiere.
1,5 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 493.
Nach kürzerem Krankheitsablauf und deutlichen Lähmungs- und Atemnotterscheinungen verendeten die Mäuse nach 24 Std.
5. 1,7 % Essigsäure, 14 Tage alt, Extrakt 494.
Interessant an dem klinischen Bild der geimpften Mäuse war die Tatsache, daß die Tiere etwa sechs Stunden nach der Impfung unlustig wurden und leichte Krankheitserscheinungen zeigten. Das gestörte Allgemeinbefinden hielt etwa 24 Stunden an, um dann zur Besserung überzugehen. Am dritten Tage erschienen die Tiere bereits wieder völlig gesund.

Zur Kontrolle wurden unbeimpfte Extrakte injiziert, wobei alle Versuchstiere ohne Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes weiter lebten. Hierdurch ist bewiesen worden, daß das beschriebene klinische Verhalten der positiven Reagenten auf das in den beimpften Extrakten vorhandene Botulinustoxin zurückzuführen war.

Zum Nachweis der Thermolabilität der verwendeten Toxine wurden die Extrakte dreißig Minuten im Wasserbad gekocht und erneut verimpft, wobei alle Versuchstiere ohne Krankheitserscheinungen am Leben blieben.

Die Berechtigung zu der Behauptung, der untere Säuregrenzwert läge bei 1,7 % Essigsäure, wurde trotz des positiv verlaufenen Versuches Nr. 497 der Tabelle 1 aus den negativ verlaufenen Versuchsreihen der Tabelle 2 (1,7 % Essigsäure im Geleeaufguß nach ein-, drei- und siebentägiger Zwischenaufbewahrung bei den Stämmen Dolman und U 21) abgeleitet.

Bemerkenswert ist, daß bei den Extrakten aus Botulinus-B-Impfungen in dieser Versuchsserie das Toxin bei Wiederholung des Mäusetestes offensichtlich geschwächt war. Ähnliche Ergebnisse traten bei den Extrakten mit *Parabotulinus* auf. Demgegenüber wurde bei den mit *Botulinus E.* Dolman beimpften Gruppen eine Verschärfung der Toxinbildung bei der Wiederholung beobachtet.

Eine Schwächung durch die längere Säureeinwirkung dürfte eigentlich nicht in Frage kommen, da die Botulinustoxine allgemein als säureunempfindlich gelten. Man könnte schon eher an die Existenz antibiotisch oder antitoxisch wirkender Stoffe denken, die hier möglicherweise im späteren Verlauf durch andere Organismen aus der Gelatine oder dem Fisch gebildet wurden, gegen die *Botulinus E.* Dolman unempfindlich ist. *Botulinus* U 21 nimmt möglicherweise eine Mittelstellung ein. In der Versuchsserie der Tabelle 2 konnten solche Ergebnisse bei Wiederholungstesten nur in einem Falle (*Parabotulinus*) beobachtet werden. Immerhin ergibt die bereits veröffentlichte statistische Auswertung von Kietzmann (1957) aus den 1863 beimpften Mäusen dieser Arbeit, daß die Todesfälle durch Toxine der E-Stämme sich in der Zeit vom dritten bis vierzehnten Tag steigern, also einen protrahierten Krankheitsverlauf zeigen. In dieser Veröffentlichung werden ferner abweichende Krankheitssymptome, wie Lähmung im Bereich einer Vorderpfote, beschrieben. Hier finden sich schließlich auch Angaben über die einzelnen Sektionsbefunde.

Zusammenfassung

Es wurden verschiedene Botulinusorganismen auf ihre Empfindlichkeit gegenüber der Wasserstoffionenkonzentration im Reagenzglas in Traubenzucker-Leber-Bouillon sowie im praktischen Versuch in der Kochmarinade „Hering in Gelee" untersucht.

1. Die Toxinbildung ist abhängig vom jeweiligen Stamm sowie von den Milieubedingungen, wobei dem pH-Wert besondere Bedeutung beigemessen wurde.
2. Im Reagenzglasversuch wurden bei pH 5,3 gelegentlich noch Entwicklungen festgestellt, wenn auch mit Verzögerung.
3. Die Diffusion der Essigsäure aus dem Geleeaufguß in das Fischfleisch erfordert je nach der Konzentration verschieden lange Zeit. Damit im Gesamterzeugnis ein Wert unter pH 5,3 bereits nach einem Tag erreicht wird, muß die Essigsäurekonzentration im Geleeaufguß mindestens 1,9 % betragen.
4. Durch Lagerung bei niedriger Temperatur (Kühlraum) läßt sich die Entwicklung der Botulinuskeime hintenan halten, bis die Säurediffusion abgeschlossen ist.
5. Die Säuretoleranz der geprüften Stämme ist am höchsten bei *Cl. botulinum E* Stamm Dr. Dolman.
6. Im klinischen Verhalten der Versuchstiere, die mit Extrakten dieser Versuchsreihen geimpft wurden, zeigten sich Unterschiede bei den verschiedenen *Botulinus*-Stämmen.

Für die Praxis der Geleewarenherstellung ergeben sich die folgenden Hinweise:

Zur Vermeidung der Entwicklung von Organismen aus der *Botulinus*-gruppe sollten die Geleeaufgüsse bei dem üblichen Verhältnis von Fisch zu Aufguß wie 1 zu 1 mindestens 1,9 bis 2,0 % Essigsäure enthalten. Ferner sollte die Ware bei sofortigem Versand mindestens 24 Stunden im Kühlraum (2—4° C) gestanden haben, damit die Diffusion der Essigsäure beendet ist, bevor etwaige Botulinuskeime günstige Temperaturverhältnisse für ihre Vermehrung gefunden haben.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, dem Bundesverband der deutschen Fischindustrie e. V. für die Unterstützung bei der Durchführung der Mäuseversuche zu danken.

Anschriften der Verfasser:

Dr. Victor Meyer, Institut für Meeresforschung, Bremerhaven-G., Am Handelshafen 12

Dr. Ulrich Kietzmann, Staatliches Veterinäruntersuchungsamt, Bremerhaven-Fischereihafen

Literaturverzeichnis

ASCHEHOUG, V. 1953. Bericht über die Methode des Herrn Buttiaux für die Kontrolle von Schinken als Konserve, angewandt auf Fischhalbkonserven. Comité International Permanent de la Conserve.

BEHRE, A. 1955. Kritische Betrachtungen über den Nachweis bakterieller Lebensmittelvergiftungen, insbesondere von Fischbotulismus. Deutsche Lebensmittelrundschau 51, pp. 83—84, 117—120, 139—144, 163—168.

BURKE, G. S. 1923. Studies on the thermal death of spores of *Clostridium botulinum*. 3. Dormancy or slow germination of spore and optimum growth condition. — Journ. Inf. Dis. 33, pp. 274—284.

DACK, G. M. 1943. Food poisoning. — Univ. of Chicago Press, pp. 36—67.

DOZIER, C. C. 1924. Optimum and limiting hydrogen ion concentration for B. Botulinus and quantitative estimation of its growth. XVI. — Journ. Inf. Dis. 35, pp. 105—133.

DUCRET, S. 1929. Pathogene Anaerobier und Wasserstoffionenkonzentration. — Festschr. W. Silberschmidt. Zürich. Benno Schwabe & Co. Verlag, pp. 98—102

HARMSEN, H. 1954. Botulismus-Fischvergiftungen. — Deutsche Lebensmittelrundschau 50, pp. 52—54, 97—100.

— 1955. Noch einmal Botulismus-Fischvergiftungen. — Deutsche Lebensmittelrundschau 51, pp. 196—197.

KIETZMANN, U. 1957. Beobachtungen bei Tierversuchen zum Nachweis von Botulinus-Toxin. — Berliner und Münchener Tierärztl. Wochenschr. 70, pp. 366—368.

LEISTNER, L. 1955. Ein einfaches Verfahren zur Zählung und Züchtung von Anaerobiern. — Die Fleischwirtschaft 7, pp. 109—112.

MEYER, K. F. 1928. Botulismus in Kolle, Kraus, Uhlenhuth. — Handb. der pathogenen Mikroorganismen, 3. Aufl., Band 4.

MEYER, V. 1953. Zur Frage des Essiggehaltes und pH-Wertes in Kochmarinaden. — Die Fischwirtschaft 5, pp. 275—278.

— 1956. Probleme des Verderbens von Fischkonserven in Dosen. II. Aminosäurendecarboxylase durch Organismen der *Betabacterium-Buchneri*-Gruppe als Ursache bombierter Marinaden. — Veröff. Inst. f. Meeresforsch. Bremerhaven, Bd. IV, pp. 1—16.

PEDERSEN, H. O. 1953. Botulisme. — Nordisk Veterinaer-medicin 5, pp. 700—730.

TORREY, J. C. und M. C. KAHN. 1923. The inhibitions of putrefactive spore bearing anaerobes by *Bacterium acidophilum*. — Journ. Inf. Dis. 33, pp. 482—497.

TOWNSEND, C. T., LOIS YEE und W. A. MERCER. 1954. Inhibition of the growth of *Clostridium botulinum* by acidification. — Food Research 19, pp. 536—542.

Inhaltsverzeichnis

Band V, Heft 2

Seite

DIETRICH, R., und W. HÖHNK. Über das Öl des submers lebenden Pilzes Ceratostomella spec. (Sphaeriales, Ascomycetes) 135

ROTTHAUWE, H.-W. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie und Osmoregulation bei Mytilus edulis mit einem kurzen Anhang über die Blutkonzentration von Dreissensia polymorpha in Abhängigkeit vom Elektrolytgehalt des Außenmediums 143

BARNES, H., und M. BARNES. Note on the opening response of Balanus balanoides (L.) in relation to salinity and certain inorganic ions 160

BURSCHE, E.-M., H. KÜHL und H. MANN. Hydrochemie und Phytoplankton in der Unterelbe 165

HÖHNK, W. Mykologische Notizen: I. Mikropilze im Eis 193

MEYER, V., und U. KIETZMANN. Probleme des Verderbens von Fischkonserven in Dosen. V. Das Verhalten von Botulinuskeimen in Geleeheringen 195